Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. F r a n k e

ENZYMAKTIVITÄTEN IN DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER NACH 2/3 HEPATEKTOMIE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER GLUKONEOGENESE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Wolfgang S c h a u m
aus Gelnhausen

Würzburg 1970

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. F r a n k e

ENZYMAKTIVITÄTEN IN DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER NACH 2/3 HEPATEKTOMIE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER GLUKONEOGENESE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Wolfgang S c h a u m
aus Gelnhausen

Würzburg 1970

Referent: Privatdozent Dr. med. H. H a u g

Korreferent: Professor Dr. med. H. F r a n k e

Tag der Promotion:

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

In Dankbarkeit meinen Eltern

G L I E D E R U N G

		Seite
I	EINLEITUNG	1
II	MORPHOLOGIE DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER	3
III	ZUR BIOCHEMIE DER LEBERREGENERATION a) Veränderungen im Blutplasma b) Biochemische Veränderungen im Lebergewebe	7
IV	BISHERIGE VORSTELLUNGEN ÜBER DIE URSACHEN DER LEBERREGENERATION	14
V	MATERIAL UND METHODIK	22
VI	ERGEBNISSE DER EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN	34
VII	DISKUSSION	50
VIII	ZUSAMMENFASSUNG	60
IX	LITERATURANGABEN	63
X	LEBENSLAUF	73

EINLEITUNG

Die Leber besitzt eine ungewöhnliche Fähigkeit zur morphologischen Regeneration und funktionellen Kompensation.

Nach 2/3 Hepatektomie erreicht das Lebergewicht der Ratte seinen Ausgangswert zu cirka 100 % in 20 Tagen wieder (35).

Nach operativer Entfernung großer Teile der Leber genügt für die Erhaltung des Individuums 10 % des ursprünglichen Lebergewebes, das die Leistung der gesamten Leber übernimmt.

Die Triebfeder für diese rasche funktionelle Kompensation und morphologische Regeneration ist bisher nicht bekannt.

Wie wir in den folgenden Kapiteln zeigen werden, wurde in einer Vielzahl von experimentellen Arbeiten versucht, der Ursache der Leberregeneration auf die Spur zu kommen. Die vielen in der Literatur vorgebrachten Theorien (7, 101, 25, 82, 27, 104, 1, 75) - auf die wir in einem besonderen Kapitel kurz eingehen werden - zeigen, daß es bisher nicht gelungen ist, experimentelle Grundlagen für eine einheitliche, allgemein akzeptierte Theorie zusammenzutragen.

Die restliche Leber muß die gesamte Arbeit des ursprünglich unversehrten, vollständigen Organes übernehmen. Eine funktionelle Überbeanspruchung führt häufig zu einer Hypertrophie bzw. Hyperplasie des betroffenen Organes. So steigt das Muskelgewicht bei Muskeltraining, und die Herausnahme einer Niere führt zur kompensatorischen Hyperplasie der zweiten Niere.

Ausschlaggebend für unsere Versuchsanordnungen waren Befunde, die schon 1921 von MANN und MAGATH (62) an der Mayo-Klinik in Rochester erhoben wurden. Sie arbeiteten eine Methode zur totalen Entfernung der Leber des Hundes aus. Vier bis sechs Stunden nach Wegnahme der Leber trat eine extreme Hypoglykämie

auf, und die Tiere starben im hypoglykämischen Koma. Wurde die Hypoglykämie durch Glukose-Infusionen ausgeglichen, so starben die Tiere nach 20 bis 24 Stunden an einer Störung des Stickstoff-Stoffwechsels mit Abfall des Blutharnstoffes, Anstieg der Harnsäure und des Blutammoniaks in einem Leberkoma mit einer Symptomatik, wie sie am Krankenbett bei schweren Leberparenchymschäden zu beobachten ist. Die Entgiftungsfunktion des Organismus ist nach totaler Hepatektomie nicht mehr gewährleistet.

Da bei 2/3 Hepatektomie die Tiere ohne die auffallende Symptomatik eines hypoglykämischen oder ammoniakalischen Komas überleben und außerdem zu einer starken Leberregeneration fähig sind, muß die Restleber die gesamte Funktion des intakten Organes übernehmen, d.h. die Stoffwechselfunktionen des Leberrestes müssen erheblich gesteigert werden. Die Versuchstiere starben nach totaler Hepatektomie aus folgenden Gründen:

1) Mit der Leber ist ein entsprechendes Glykogendepot von 9-10% des Organfeuchtgewichtes entfernt worden (48, 36, 96, 97).

2) Der Organismus büßt mit dem Verlust der Leber die Fähigkeit zur Blutzuckerneubildung ein.

3) Erst später erfolgt der Tod durch endogene Intoxikation. Auch bei 2/3 Hepatektomie gehen 2/3 des Glykogendepots verloren. Die Fähigkeit der Restleber zur Glukoneogenese muß deshalb so zu steigern sein, daß die Versorgung des Organismus mit Blutglukose gewährleistet ist.

Um einen Anhalt für die Richtigkeit unserer Vorstellungen zu gewinnen, untersuchten wir während der Regeneration der Leber 6 Enzyme des glykolytisch-glukoneogenetischen Systems.

Aus Veränderungen der hepatozellulären Enzymaktivitäten versuchten wir, einen Einblick in die Stoffwechselabläufe der regenerierenden Leber unter besonderer Berücksichtigung der Glukoneogenese zu erhalten.

MORPHOLOGIE DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER

Dazu sind kurz die zytologischen Grundlagen und die jeweils sehr verschiedenen Voraussetzungen für den Zellersatz zu erwähnen.

BIZZOZERO hat die Zellsysteme und Gewebe in drei große Gruppen eingeteilt:

1) LABILE ELEMENTE oder WECHSELGEWEBE
   mit ständiger Zellerneuerung wie z.B. Hämopoese, Plattenepithelien und Zellen des Magen- und Darmtraktes.
2) STABILE ELEMENTE
   deren Hauptvertreter die parenchymatösen Organe wie z.B. Leber, Niere, Nebenniere und Pankreas darstellen. Diese stabilen Elemente zeigen nur noch eine sehr geringe mitotische Aktivität im ausgewachsenen Zustand.
3) PERMANENTE ELEMENTE oder DAUERGEWEBE
   dazu zählen u.a. die gesamte quergestreifte Muskulatur und die Ganglienzellen. Diese Zellsysteme zeigen nach der Wachstumsphase keine Mitosen mehr.

Die Leber zählt, wie oben erwähnt, zur 2. Gruppe dieser Einteilung, für welche folgende Merkmale charakteristisch sind:

Es besteht keine Trennung in proliferierende und funktionierende Elemente. Prinzipiell ist jede Zelle in der Lage eine Mitose durchzuführen. Die Intermitosezeit (Lebenszeit) der Parenchymzellen, gemessen an der Desoxyribonukleinsäure-Synthese mit ^{3}H-Thymidin, ist mit 446 Tagen anzusetzen (60, 77, 78, 79). Die einzelnen Phasen des mitotischen Teilungszyklus dauern im Gegensatz zu den labilen Geweben doppelt so lange. Die S - Phase nimmt einen Zeitraum von cirka 18 Stunden ein, die G_2-Phase 2 Stunden und die M-Phase 5 Stunden (88). Siehe Abbildung 1, Seite 5.

Bei den wenigen stattfindenden Mitosen treten öfter Spindelstörungen auf, die zu höher ploiden Kerntypen im Laufe des Alterns führen. Es läßt sich sagen, daß die überwiegende Mehrzahl tetraploider Kerne - in den Lebern der kleinen Nager bis zu 75 % - die bei weitem häufigste Kernklasse darstellen.

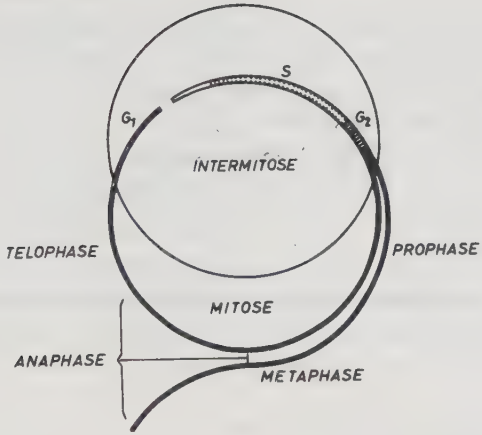
Diese Erscheinung ist auf mehr oder weniger rudimentäre, aber doch mit Eröffnung der Kernmembran einhergehende Mitosen zurückzuführen (2, 67).

Gegenüber den labilen Elementen muß bei den stabilen Elementen eine Teilungsbereitschaft bei Bedarf erst wieder hergestellt werden, d.h. die Zellstoffwechselabläufe müssen von FUNKTION auf TEILUNG umgestellt werden. Diese Umstellung und Neuorganisation des Zellstoffwechsels bis zum Beginn der Mitosen bedarf nach den Untersuchungen von EDWARDS und KOCH 1964 (21, 69) einer Zeit von 16 - 18 Stunden.

In dieser präproliferatorischen Zeit der Leberregeneration kann man zwei Erscheinungsgruppen beobachten.

1) Der Glykogengehalt schwindet innerhalb von 2 Stunden, eine starke Verfettung tritt ein, es bilden sich intrazelluläre Eiweißtropfen und eine Mitochondrienschwellung ist deutlich wahrzunehmen.
   Diese Phänomene werden der reaktiven Notfallsituation zugeordnet, in der sich die Zellen befinden.
2) Andererseits findet man Veränderungen, wie die der Vermehrung der zytoplasmatischen Basophilie, die wiederum Ausdruck erhöhter biochemischer Aktivität sind (24, 28).

Solche zytoplasmatischen Erscheinungen werden als regenerations- oder proliferationsspezifisch angesehen. Auch die präproliferatorische Volumenzunahme des Kernes ist als präparativ für die folgende D N S-Synthese zu beurteilen.



Der mitotische Kernzyklus

Abb. 1 aus H.-W. ALTMANN "Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen (1966)

G_1 = Erste Generationszeit, in der sich der Kern in der Zeit von der Bildung bis zur nächsten beginnenden Teilung befindet.

G_2 = Ruhepause zwischen S-Phase und Prophase.

S = Synthesephase, D N S Synthese im Stadium des Ruhekerns, vor Beginn der Prophase.

E. STÖCKER hat 1966 durch ^{3}H-Thymidin Aktivitätsmessungen den Proliferationsmodus der Niere und der Leber genauer studiert und ist zu folgender Aussage gekommen: "Durch Reize können aber Leber und Niere zu einer ganz außerordentlich starken Regeneration gezwungen werden. Der Proliferationsmodus wird dabei temporär auf die schnelle Phase umgeschaltet und dem in labilen Organen, wie etwa dem Darmtrakt, angeglichen."

Die genaue Situation über den Einbau von ^{3}H-Thymidin, die Umschaltung von dem langsamen auf den schnellen Proliferationsmodus und die zeitlichen Beziehungen zueinander gibt folgendes Diagramm sehr deutlich wieder (87).

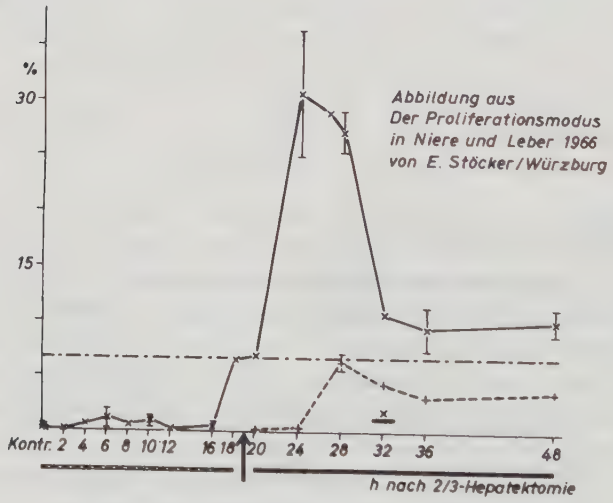


Abb. 2. ^{3}H-Index (——) und Mitose-Index (----) in % bei jeweils einstündiger radioaktiver Versuchszeit als Funktion der Zeit nach 2/3-Teilhepatektomie eben ausgewachsener Ratten
(▬▬) = langsame, (▬▬) = schnelle DNS-Synthese
(-·-·-) = Schwellenwert für Umschaltung der DNS-Syntheserate.

Die Proliferation schreitet topographisch gesehen in den einzelnen Läppchen von peripher nach zentral fort. Dies ist dadurch zu erklären, daß die in der Nähe des Läppchenzentrums gelegenen Zellen wesentlich träger proliferieren.

Bei der Wiedereröffnung des Abdomens nach erfolgter 2/3 Hepatektomie kann man erkennen, daß nicht die weggeschnittenen Lappen nachgewachsen sind, sondern die verbliebenen außerordentlich stark hypertrophierten. Dadurch hat die regenerierte Leber eine gänzlich andere Form und Organgliederung erhalten.

ZUR BIOCHEMIE DER LEBER UND DER LEBERREGENERATION

Im intermediären Stoffwechsel der Kohlehydrate, Fette und Eiweiße spielt die Leber eine zentrale Rolle. Im Dünndarm resorbierte und mit der Pfortader zur Leber gebrachte Kohlehydrate (Glukose, Fruktose, Galaktose usw.) werden in der Leber wahrscheinlich unter Einwirkung von Insulin zu Glykogen aufgebaut, abgelagert und bei Bedarf wieder in den Blutkreislauf zugeführt. Die in der tätigen Muskulatur gebildete Milchsäure (Lactat) wird in der Leber z.T. wieder in Glykogen umgebaut. Das vorhandene Gleichgewicht zwischen Leber und Muskelglykogen einerseits und dem Blutzucker andererseits wird hormonell und nerval gesteuert (83). (Homöostatischer Mechanismus)

Im Dünndarm aufgespaltene Eiweiße werden als Aminosäuren resorbiert und zum Teil in der Leber durch De- und Transaminierung sowie Decarboxylierung abgebaut (Harnstoffzyklus).

Die der Leber aus den verschiedenen Depots und aus dem Darm zugeführten Fettsäuren werden - im Rahmen des Fettstoffwechsels - hier abgebaut, verestert und zum Teil als Neutralfett abgelagert und nach dem Umbau wieder an das Blut abgegeben. Die Leber bildet und speichert Phospholipoide (für den Trans-

port der Fettsäuren), Plasmalipoproteine und Cholesterin und vermag letzteres - als spezifische Funktion der Leberparenchymzelle - zu verestern (45).

Es würde zu weit führen, noch auf die weiteren Funktionen der Leber einzugehen (Entgiftungsfunktionen, Bildung von Gerinnungsfaktoren usw.).

Entfernt man einen großen Teil der Leber, so werden alle diese Funktionen erheblich gestört. Die Auswirkungen betreffen den gesamten Organismus.

Veränderungen im Blutplasma:

Der Abfall oder Anstieg der einzelnen im Plasma befindlichen Substanzen ist entsprechend dem Ausmaß der Resektion schneller oder langsamer zu erwarten, wenn die Leber:
1) der ausschließliche Bildungsort
2) der Umsatz der Metaboliten groß
3) die biologische Halbwertszeit klein ist und
4) der Abbau, die Entgiftung oder die Elimination in der Leber stattfinden (37).

10% - 20% des ursprünglichen Organes reichen noch aus, die wichtigsten Funktionen des Organismus aufrecht zu erhalten. Die Glukose zeigt zwar einen raschen und starken Abfall, aber die verbleibende Glukoneogenese ist immer noch ausreichend, um das Gehirn mit Glukose zu versorgen. Ein hoher respiratorischer Quotient des Gehirns von 0,97 - 0,99 (22) läßt darauf schließen, daß das Zentralorgan fast ausschließlich Kohlehydrate zur Energiegewinnung verwendet (38). Der Ruheverbrauch der Glukose im Gehirn wird mit etwa 5 mg je 100 g Gewebe pro Minute errechnet. Sie wird dem Blut entnommen, das in einer Passage durch das Gehirn 9,8 $\pm$ 1,7 mg % abgibt. Das Gewebe kann nur geringe Mengen Glukose als Glykogen cirka 100 - 500 mg speichern (96).

Einzelne Serumproteinfraktionen, besonders Serumalbuminkonzentrationen, sinken nach 2/3 Hepatektomie stark ab (34). GLINOS sieht in dieser Serumalbuminkonzentration eine Möglichkeit zur Kontrolle der Leberregulation (31). S. BENGMARK, O. ALMERSJÖ und L. ENGEVIK haben nach Hemihepatektomie beim Menschen einen Mangel an wesentlichen Aminosäuren nachgewiesen und sind der Meinung, daß sich Proteinzufuhr für die Leberregeneration förderlich auswirkt (5).

Die Entgiftungsfunktionen sind erheblich beeinträchtigt. Das Bilirubin z.B. steigt langsam an. Dies ist bedingt durch die quantitativ unzureichende Kopplung des freien Bilirubins durch Glukuronyltransferrase an die Glukuronsäure.

Einzelne Gerinnungsfaktoren, die vermutlich in der Leber synthetisiert werden, wie Prothrombin, Faktor V, VII, X, weisen nach der partiellen Hepatektomie einen erniedrigten Spiegel im Serum auf (Lit. bei 37).

Biochemische Veränderungen im Lebergewebe

Die schon erwähnten morphologischen Erscheinungen in der regenerierenden Zelle sind Ausdruck der gesteigerten Neusynthesen und Stoffwechselvorgänge.

Die Volumenzunahme des Kernes könnte als Ausdruck dafür gedeutet werden, daß hier die ersten Schritte zur Enzymaktivierung ablaufen. D.h. hier werden Arbeitskopien (Repressorgen, Operatorgen) der Gene hergestellt, die nach dem Prinzip der Basenpaarung (WATSON) erfolgen und dann als Informationen (messenger RNS) in die Zelle geschickt werden (100).

Die Zunahme der zytoplasmatischen Basophilie entspricht einer Vermehrung der freien Ribosomen, d.h. eine erhöhte R N S - Synthese findet statt und der Gehalt an R N S ist gestiegen. Diese neugebildete R N S induziert die Bildung derjenigen Fermente, die für die folgenden Neusynthesen unerläßlich sind (24, 89).

Mit dem raschen Absinken des Leberglykogens steigt parallel der Gehalt an Lipiden, und es treten Neutralfettropfen auf, was makroskopisch in einer starken Verfettung zum Ausdruck kommt.

HARKNESS hat diese Gehaltsänderungen u.a. in folgendem Diagramm dargestellt:

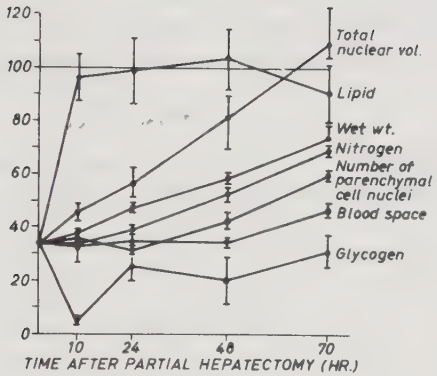


Abb. 3 aus HARKNESS R.D., "Scientific Basis of Medicine", Annual Reviews 1961, Seite 240.

Daneben gibt es unter verschiedenen Bedingungen kugelförmige Einschlüsse mit positiver PAS-Reaktion, deren Bluteiweißnatur durch lichtmikroskopische Untersuchungen weitgehend gesichert ist (72).

Die Leberzelle besitzt die Fähigkeit, ihren Glukosestoffwechsel den jeweiligen physiologischen Gegebenheiten anzupassen. Mit dieser intrazellulären Abstimmung der einzelnen Stoffwechselwege der Glukose hat sich besonders H.A. KREBS auseinandergesetzt (48).

Im Lebergewebe läuft der Kohlehydratstoffwechsel in zwei entgegengesetzten Richtungen, Abbau und Synthese. Weil beide in der gleichen Zelle, in den gleichen Strukturen, teils mit den gleichen Enzymen ablaufen, ist anzunehmen, daß zu einer

Zeit nur eine Reaktion stattfinden kann. Die Richtung dieses Gesamtstoffwechsels ist nicht abhängig von thermodynamischen Gleichgewichten, sondern KREBS fordert einen bestimmten Reglermechanismus, der die notwendigen Stoffwechselwege an- oder abschaltet (48).

In folgendem Schema ist der Weg der Glykolyse und der der Glukoneogenese kurz dargestellt.

(Links Glycolyse, rechts Gluconeogenese)

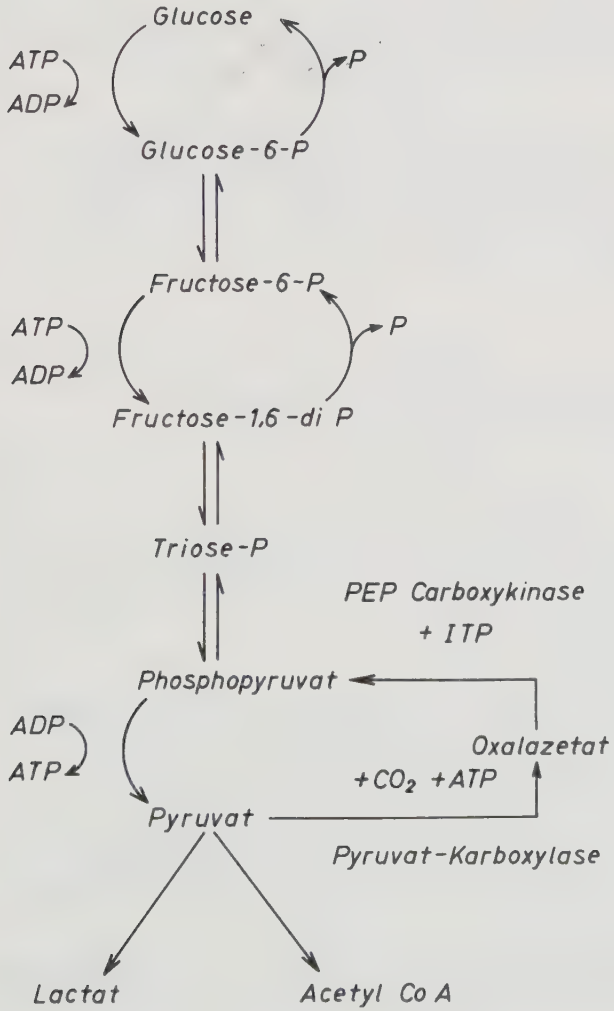


Abb. 4 aus "Control Mechanism of Carbohydrate Metabolism"
H.A. KREBS (Oxford, U.K.)

Die Änderung von Enzymaktivitäten in den Geweben wird heute allgemein als Maßstab für die Anpassung des Organismus an neue Lebensbedingungen betrachtet; denn gerade die Änderungen der Konzentrationen der einzelnen Enzyme im Zusammenhang von funktionellen Ketten stellen eine grundsätzliche Möglichkeit zur Neuordnung des Zellstoffwechsels dar (106).

Diese in den letzten Abschnitten dargelegte Überlegung war Ausgangspunkt für unsere experimentellen Untersuchungen. Wir beobachteten das Verhalten einiger Enzyme bezüglich ihrer Aktivität in dem glykolytisch-glukoneogenetischen System der regenerierenden Rattenleber.

BISHERIGE VORSTELLUNGEN ÜBER DIE URSACHEN DER LEBERREGENERATION

Die erstaunlich große, fast unerschöpfliche Fähigkeit der Leber zur Regeneration ermöglicht, daß man durch wiederholte partielle Hepatektomie ein Mehrfaches des ursprünglichen Lebergewichtes erhalten kann.

Durch 3malige partielle Hepatektomie am gleichen Tier konnten wir insgesamt 25g Lebergewebe gewinnen. Das normale Gewicht dieses Organs bei der Ratte beträgt ca. 10g. Auch nach der letzten 2/3 Leberresektion war die Regeneration rasch vonstatten gegangen, aber eine erneute Resektion eines Teiles der Leber war dann durch die aufgetretenen Verwachsungen nicht mehr möglich. Wunderbarerweise hört die Vermehrung der Leberparenchymzellen langsam auf, wenn das ursprüngliche Lebergewicht wieder erreicht ist. Der Mechanismus, der das Geschehen der Leberregeneration steuert, ist nicht bekannt. Es gibt eine beträchtliche Anzahl von Hypothesen,

die alle durch mehr oder weniger zwingende Beweise untermauert werden.

Folgende Faktoren werden in der Literatur diskutiert:

1) Leberdurchblutung und Gallenfluß
2) Spezifisch stimulierende und inhibierende Substanzen; Faktoren im Leberhomogenat
3) Hormonelle Faktoren (endokrine Drüsen)
4) Einflüsse der Ernährung.

Ad 1) LEBERDURCHBLUTUNG UND GALLENFLUSS

Das Volumen des portalen Blutflusses hat einen Einfluß auf den Zellbestand der Leber. Der Blutdruck steigt nach partieller Hepatektomie an (73). Die Unterbindung von Pfortaderästen wird von einer Atrophie der abgeschnittenen Bezirke befolgt, und die Regeneration der Restleber nach 2/3 Resektion ist verzögert, wenn gleichzeitig eine Eck'sche Fistel angelegt wird (63, 84, 76, 55, 95). Andere Autoren konnten nicht bestätigen, daß eine porto-cavale Anastomose die Leberregeneration entscheidend beeinflußt (26). Andererseits wirkt eine umgekehrte Eck'sche Fistel mit vermehrtem Blutstrom durch die Leber nicht fördernd auf eine Regeneration dieses Organes, so daß die Blutstrom-Theorie unhaltbar zu sein scheint (95). Eine ausreichende portale Blutversorgung könnte demnach weniger für die Leberregeneration als für die Verhinderung einer Atrophie von Bedeutung sein (26).

Ähnliches gilt für die Unterbindung der Gallengänge. MANN und MAGATH zeigten schon 1922, daß Leberlappen mit unterbundenen Gallengängen atrophieren und dafür die Leberabschnitte mit freien Gallengängen hypertrophieren (95). Aber selbst

bei völlig unterbundenen Gallenwegen wurde eine teilweise Leberentfernung bei Ratten von einer anfänglich langsam in Gang kommenden, dann aber offensichtlich guten Regeneration befolgt (3, 23).

Ad 2) SPEZIFISCH STIMULIERENDE UND INHIBIERENDE SUBSTANZEN, FAKTOREN AUS GEWEBEHOMOGENATEN

1949 berichteten CHRISTENSEN und JACOBSEN über mehrere Experimente mit parabiotischen Ratten. Partielle Hepatektomie eines Paarlings rief bei dem intakten Tier eine Vermehrung der Mitosen hervor (17). Die Ergebnisse einer Reihe weiterer Arbeiten blieben widersprüchlich, teils werden die Befunde bestätigt (104), oder abgelehnt (75, 43). Auch Arbeiten über den Mitoseablauf nach Injektion von Serum oder Plasma teilhepatektomierter Ratten gaben positive (1, 27, 41, 85, 109, 82) oder negative Ergebnisse (29, 47, 59). Diese Probleme wurden zusammenfassend in einer Arbeit von LEDUC behandelt (55). Besonders eindrucksvolle Berichte über Versuche mit drei parabiotischen Tieren legten BUCHER et al. vor. Die beiden äußeren Partner wurden teilhepatektomiert. Bei dem intakten mittleren Tier war die Mitosehäufigkeit 48 Stunden nach der Operation 50 mal so hoch wie bei den Kontrolltieren (13). Alle diese Untersuchungen sind dahingehend interpretiert worden, daß es ein humorales Agens geben müsse, welches, sofern es im Plasma mit ausreichend hoher Konzentration auftritt, die Mitosen der Leberzellen anregt. Dieser postulierte Faktor würde beim parabiotischen Paarling auf humoralem Wege von dem operierten zu dem nicht operierten Tier übertragen werden.

WENNEKER und SUSSMANN waren 1951 der Meinung, daß es zwei Möglichkeiten für diese Theorie gäbe:

1) Die verbleibende Restleber bildet den geforderten Faktor neu, oder
2) Ein unter normalen Umständen fortwährend vorhandener mitoseanregender Faktor X wird durch Abbau in der Leber fortwährend auf einem gewissen unterschwelligen Wirkungsspiegel gehalten. Durch die Verkleinerung der Lebermasse kommt es nun zu einer bestimmten Anhäufung dieses Faktors X und damit zu Mitoseanregung (104).

Gewissermaßen das Negativ zu diesem immer wieder postulierten, aber bisher nicht genauer dargestellten Wachstumsfaktor, hat WEISS in einer Theorie beschrieben. Er nimmt für jeden Zelltyp eine spezifische intrazelluläre wachstumsfördernde Substanz (Templates) an. Diese werden durch fortlaufende Synthese von komplementären Wirkungsstrukturen (Antitemplates) gebremst. Wird eine ausreichende Menge dieser Antitemplates gebildet, die auch in den allgemeinen Kreislauf gelangen, so entsteht ein Gleichgewicht zwischen wachstumsfördernden Templates und wachstumshemmenden Antitemplates. Nach dieser Hypothese führt die partielle Entfernung eines Organs zur Verminderung der Synthese von Antitemplates, sowohl die intrazellulären wie extrazellulären Spiegel von Antitemplates würden sinken. Die so befreiten intrazellulären Templates könnten dann das Wachstum der Zellen anregen. Sobald wieder eine ausreichende Anzahl von neuen Zellen gebildet ist, stellt sich das alte Gleichgewicht zwischen den genannten Faktoren wieder her, und das Zellwachstum wird gebremst (102, 103).

Auf der Suche nach einem derartig hemmenden Antitemplate stieß GLINOS und Mitarbeiter auf ein Plasmaprotein (30). Aus der sehr oft beschriebenen Tatsache, daß nach partieller Hepatektomie ein Abfall von Plasmaalbumin innerhalb von 24 Stunden eintritt,und dieses Eiweiß in der Leber selbst

synthetisiert wird, schlossen die Autoren, daß der gesuchte Faktor im Bereich dieser alpha-Proteinfraktion liegen könnte.

Argumente gegen diese Meinung lassen sich leicht hervorbringen. Z.B. müßte bei der angeborenen Analbuminämie die Leber unbegrenzt weiterwachsen. Auch WEINBREN glaubt, daß das Plasmaalbumin nicht der regulierende Faktor in dieser negativen Rückkopplungskontrolle der Leberregeneration sein kann (101).

FISHER, FISHER und SAFFER fanden 1963 in einer breit angelegten Untersuchung an über 800 Ratten keine sicheren mitoseanregenden Faktoren im Serum von teilhepatektomierten Tieren. Die oben zitierten, widersprüchlichen Ergebnisse führen sie auf ungenügende Kontrollen in einigen Arbeiten, zu wenige Tiere in den Versuchen, Variationen in der experimentellen Fragestellung und Unterschiede im Alter und Gewicht der Tiere zurück. Ihre Ergebnisse zeigten, daß Plasma von teilhepatektomierten Tieren i.v. oder i.p. appliziert, die Mitoserate in ähnlicher Weise anregt, wie das Serum von normalen, nicht hepatektomierten Tieren (25).
Auch im Versuch mit Hunden konnte keine Steigerung der DNS-Synthese (gemessen an der P^{32} Inkorporation) durch Applikation von Serum hepatektomierter oder normaler Tiere nachgewiesen werden. Durch wiederholte Anwendung der P^{32} Methode im Parabiose-Versuch fanden die Autoren auch hier keine Zunahme der DNS-Synthese (25).

Die Injektion von homogenisiertem oder auch fraktioniertem Lebergewebe der gleichen Tierart zeigte unterschiedliche Effekte auf die Mitosehäufigkeit der Leber. Mehrere Autoren beschrieben unter den genannten Bedingungen eine Hemmung der Mitosehäufigkeit (86, 80, 108, 98). Andere dagegen sprachen von einer Vermehrung der Zellteilungsrate in der Leber (11, 70, 54, 61, 94). Bei der Beurteilung dieser widersprüchlichen Versuche erscheint es angebracht, daraus noch keine wesentlichen Ergebnisse ziehen zu wollen.

Ad 3 AUSWIRKUNG HORMONELLER FAKTOREN (ENDOKRINE DRÜSEN) AUF DIE REGENERATION DER LEBER

Da die Leber der Abbauort für sehr viele Hormone ist, wurde die Wirkung der verschiedensten Hormone auf die Regeneration der teilhepatektomierten Leber untersucht. Man nahm dabei an, der Wachstumsfaktor könne in einem der Hormone in einer bisher unbekannten Form mit enthalten sein. Da mit der Entfernung der Leber die Kapazität dieses Hormons verkleinert werde, komme es zu einem höheren Plasmahormonspiegel, der seinerseits die Mitosen anrege. Aus diesem Grund wurden mit fast allen endokrinen, hormonproduzierenden Drüsen ähnliche Versuche unternommen. Einerseits nahm man diese Drüsen heraus und beobachtete die Regeneration der geschädigten oder partiell hepatektomierten Leber, andererseits gab man diese Hormone parenteral, um den Einfluß auf die Zellneubildung zu beobachten (14). Alle bisher vorgelegten Versuche bleiben nicht unwidersprochen.

Hypophysenhormone:

CANZANELLI et al. haben in Versuchen festgestellt, daß eine gleichzeitige Hypophysektomie mehr oder weniger verzögernd auf die Leberregeneration wirkt (15). Dagegen wird das Nachwachsen der Leber nach vorausgegangener Hypophysektomie so gut wie nicht beeinträchtigt, unter diesen Bedingungen ist aber eine schwere Hypoglykämie zu beobachten (4). Nach Injektion von Hypophysenhomogenat der Ratte steigt bei Mäusen das Lebertrockengewicht der neugebildeten Leber (93), und es zeigen sich Verschiebungen der Fettfraktionen an diesem Organ (20).

Nebennierenrindenhormone:

In vielen Experimenten und Untersuchungen sind eine Anzahl von Autoren (18, 40, 42, 105, 104) zu der prinzipiell über-

einstimmenden Meinung gekommen, daß die Nebennierenrindenhormone die Glukoneogenese stark fördern (Triggerreaktion, Enzyminduktion).
Berichte über die Wirkung der Cortisone speziell auf die Leberregeneration sind allerdings noch widersprüchlich in ihren Aussagen (nähere Lit. bei 24, 74, 16, 71, 15).

Somatotropin:

Das Wachstumshormon hat keine deutliche Auswirkung auf den Zellersatz in der Leber. Aber die entzündlich-zellige Infiltration nach CCl_4 Intoxikation soll gesteigert sein.
Bei hypophysektomierten Ratten ist eine positive Wirkung von Wachstumshormon auf den Protein- und Ribonucleinsäurestoffwechsel der Leberzellen beobachtet worden (19).

Ovarialhormone:

Die Ovarialhormone bedingen eine verminderte Einlagerung von Fett in die wachsende Leberzelle, wodurch die Leberzellmasse, besonders in den ersten Tagen nach der Operation, langsamer ansteigt (92).

Männliche Sexualhormone:

Kastrierte Ratten zeigten sich bei der Schädigung durch CCl_4 gegenüber Vergleichstieren empfindlicher und reagierten mit einer sehr deutlichen hepatozellulären GPT-Aktivitätssenkung (89). Testosterongaben verminderten die Fettinfiltration in der ersten postoperativen Phase nach einer partiellen Leberresektion.

Schilddrüsenhormon:

Die Wirkung dieses Hormones in Bezug auf die Leberregeneration wird ebenfalls nicht einheitlich beurteilt. Ratten, die sich durch Gaben von J^{131} in einer hypothyreoten Stoffwechsellage befanden, zeigten nur eine geringe, statistisch nicht signifikante Beeinträchtigung der Leberregeneration. Thyreotektomie soll sich fördernd auf das Wachstum der Leberzellen auswirken (81).

Ad 4 ZUM EINFLUSS DER DIÄT

Durch viele unterschiedliche Nahrungskombinationen versuchte man, diätetische Faktoren zu finden, die das Ausmaß und die Regenerationsgeschwindigkeit der Leber beeinflussen könnten (107, 91, 34, 55, 101). Die Mehrzahl der Autoren ist zu der übereinstimmenden Meinung gelangt, daß Diätkombinationen keinen wesentlichen Einfluß ausüben.

Allerdings wurde in zwei Arbeiten festgestellt, daß proteinreich ernährte Tiere die Leber schneller regenerierten, als proteinarm gefütterte Vergleichstiere (33, 5). Wie oben schon erwähnt, nimmt man an, daß die nachwachsende Leber zur Deckung ihres Bedarfs an Eiweiß wahrscheinlich unter dem Einfluß der endokrinen Drüsen auf den Proteinbestand anderer Organe zurückgreifen kann.

Schädigende Auswirkungen durch Ernährung konnte man mit Vitamin D in toxisch hohen Dosen erzielen (28). Letztlich ist noch zu bemerken, daß Pharmaka wie Purine, Orotsäure u.a. die verschiedensten Wirkungen auf die Leberregeneration zeigen. Das Studium dieser Literatur ist nahezu unergiebig, da man nur wenige genau definierte Wirkungsmechanismen kennt und außerdem die Grundlagen der einzelnen Versuchsanordnungen nur schwerlich auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen sind.

MATERIAL UND METHODIK

Zu den Versuchen wählten wir männliche Wistar-Ratten im Alter von 10 - 12 Wochen aus. Das Gewicht der Tiere betrug zwischen 250 und 320 g.

Wir hielten die Ratten in Zuchtkäfigen in einem Raum mit einer annähernd gleichmäßigen Temperatur von 20 - 23°. Als Futter dienten "Altromin" Trockennahrung und Wasser, beides ad libitum.

Zur Operationsnarkose verwendeten wir Äther, der keine hepatotoxische Wirkung haben soll (53).

Aufgrund von Angaben in der Literatur haben wir auf Scheinoperationen verzichtet. Soweit bisher beobachtet, vermindern sich die Enzymaktivitäten durch Scheinoperationen in der Leber nicht (32).

Die Operationen erfolgten immer zur gleichen Tageszeit, morgens um 8^{00} Uhr. In einer Serie operierten wir 10 Tiere in möglichst kurzem Zeitabstand hintereinander am gleichen Tag. Bei dieser partiellen Hepatektomie gingen wir nach folgender Methodik vor:

Nach Eröffnung des Abdomens banden wir den großen zentralen und den darüberliegenden geteilten Lappen zusammen an dem am Zwerchfell anhaftenden Stiel ab und schnitten diese Leberteile heraus.

Die Resektion dieser beiden großen Lappen entspricht, wie von den in dieser Arbeit zitierten Autoren allgemein angegeben, einer part. Hepatektomie von 66%.

Die Bauchmuskeln mit den Peritoneum parietale und die Cutis nähten wir nacheinander jeweils mit einer durchlaufenden Naht (Catgut, Seide) zu.

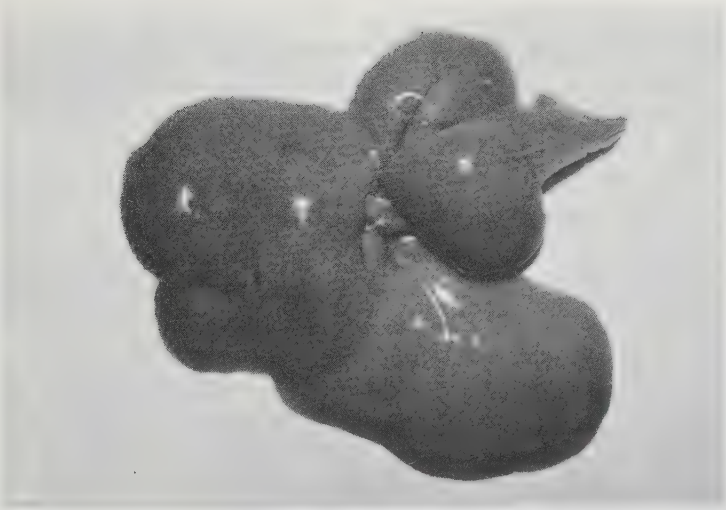


Abb. 5: Eine vollständige, normale Rattenleber.

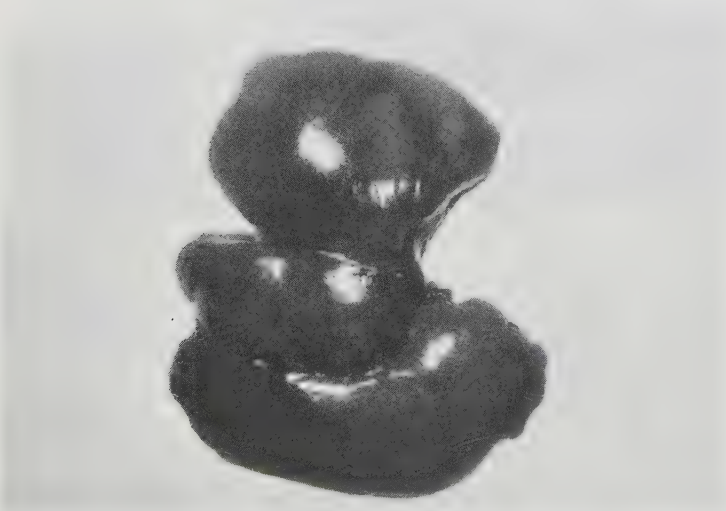


Abb. 6: Ein herausgenommenes Leberstück (66 %)
Unten der große zentrale, darüber der geteilte Lappen.

Die Tiere vertrugen die Äthernarkose gut. Sie wachten 1 - 3 Minuten nach der Operation auf und nahmen nach kurzer Zeit Nahrung zu sich. In der folgenden Wundheilungs- und Regenerationsperiode zeigten die Ratten gegenüber normalen Vergleichstieren einen leicht verminderten Bewegungstrieb, aber sonst keine auffallenden Krankheitssymptome.

Nach einer Regenerationszeit operierten wir diese Ratten wieder, um die nachgewachsene Leber herauszunehmen (Abb. 7).

Abb. 7: Das Bild zeigt eine Leber nach 2/3 Hepatektomie und einer Regenerationsdauer von 10 Tagen. Im Vergleich mit Abb. 5 ist deutlich die Hypertrophie der kleinen verbliebenen Lappen zu erkennen. Abb. 5, 6 und 7 sind im Maßstab 1:3 wiedergegeben.

Bei dieser zweiten Operation wurde nach folgender Methode verfahren: Wir schnitten das Abdomen parallel der alten Operationsnarbe auf und stellten zunächst die nachgewachsene Leber dar.

In dem anschließend geöffneten Thorax kamen das noch schlagende Herz und die Vena cava inferior unter den Lungenflügeln zum Vorschein.

Um die Leber möglichst blutleer zu erhalten und die noch ablaufenden Stoffwechselvorgänge zu reduzieren, spülten wir das Organ in situ sofort mit 0,1 molarem, auf 3 - 4° abgekühlten Trispuffer folgendermaßen durch:

Nach Durchtrennung der Vena cava inferior oberhalb des Zwerchfells blutete das Tier zuerst von selbst aus. Anschließend injizierten wir 40 cm^3 des erwähnten Trispuffers langsam in die sich noch rhythmisch kontrahierende linke Herzkammer. Auf diese Weise erreichten wir, daß das gesamte Blut der Ratte auf das 5 - 6 fache verdünnt wurde. Die Farbe des aus der eröffneten Vena cava inf. strömenden Blutes wechselte von dunkelrot zu einem wässrig hellroten Ton.

Als zweite Maßnahme zur Entblutung dieses Organes präparierten wir die Pfortader frei. Diese ließ sich deutlich im Mesenterium als cirka 1 - 1,5 mm starkes, bläulich schimmerndes Gefäß darstellen. Durch dieses Gefäß injizierten wir jetzt wiederum langsam 40 ml des Puffers in Richtung Leberpforte. Im Verlauf dieser sorgfältig durchgeführten Behandlung war auf der Leberoberfläche ein deutlicher Farbwechsel zu erkennen. Zentral zeigten sich auf den einzelnen Lappen zunächst punktförmige Aufhellungen, die sich im Verlauf der Spülungen bis zu den Rändern ausbreiteten. Abb. 8 zeigt deutlich den Unterschied zwischen einer gespülten und einer nicht gespülten Rattenleber.

Anschließend präparierten wir das Organ von allen Seiten frei und lösten es heraus. Nach der Extirpation wurde die Leber noch einmal mit gekühlter Trispufferlösung abgespült, mit Zellstofftupfern äußerlich abgetrocknet und genau ein Gramm des Gewebes abgewogen. Das Organstückchen zerkleinerten wir dann unter Zusatz von 5 ml 20% Saccharose-Trispufferlösung in einem

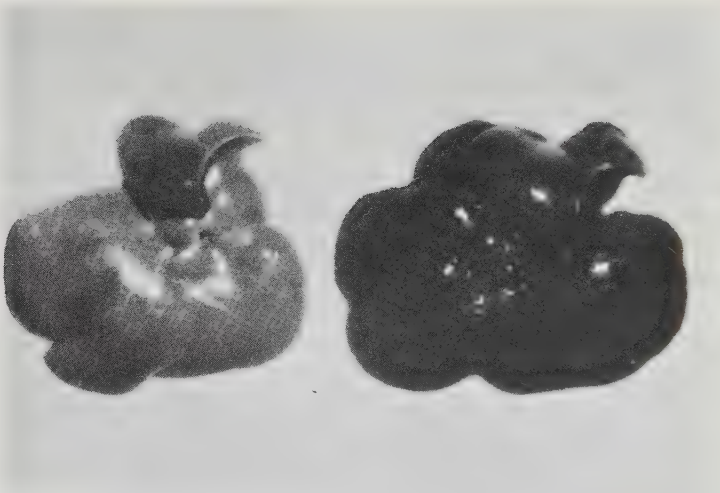


Abb. 8: Die linke Leber ist nach oben beschriebener Methode gespült worden, die rechte nicht.

DUALL-Glasschliffhomogenisator. Die Umdrehungsgeschwindigkeit des Homogenisators war gering (60-70 U/min). Außerdem war das Gerät noch durch Eiswasser gekühlt, damit hierbei keine schädigenden Temperaturerhöhungen auftreten konnten. Das Homogenat überführten wir in ein Zentrifugenglas und spülten den Homogenisator mit 5 ml 20% Saccharose-Trispufferlösung nach, so daß 11 g (1 g Lebergewebe + 10 cm^3 Pufferlösung) in die Zentrifuge kamen. Diese ergaben bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit von 3100 U/min (15 min Laufzeit) eine Beschleunigung von ungefähr 1600 g (1609,8 g). Dadurch werden Zellmembranen und Zellkerne in den Bodensatz gebracht, während Mitochondrien, Ribosomen und Ergastoplasma im Überstand bleiben. Dieser, in ein gekühltes Reagenzglas abgegossen, diente uns jetzt als Grundlage für die folgenden Enzymaktivitätsbestimmungen.

Lichtmikroskopisch betrachtet konnte man in der Testlösung unter Benutzung der Ölimmersion keine Zellen oder Zelltrümmer mehr nachweisen.

ENZYMAKTIVITÄTSBESTIMMUNGEN

In der regenerierenden Rattenleber bestimmten wir insgesamt 5 Enzyme aus dem glykolytisch-glukoneogenetischen System. Außerdem wurde die Glutamat-Pyruvat-Transaminase bestimmt, um Aufschlüsse über den Aminosäurestoffwechsel zu bekommen und um Vergleichsmöglichkeiten mit früheren Arbeiten zu haben (7).

In einer Vorserie von 21 Tieren stellten wir die Methodik der Enzymaktivitätsbestimmungen auf und übten die praktische Durchführung, um die Zahl der Fehlerquellen in den Hauptserien möglichst klein zu halten. Die Ausgangsverdünnungsstufe der Testlösung (1 g Lebergewebe + 10 ml 20 % Saccharose-Trispufferlösung) und die Reihenfolge der Messungen wurden konstant beibehalten, um Fehler, die aus Inaktivierungen resultierten, während der Messungen klein zu halten. Unser Meßinstrument war ein Eppendorf-Photometer, dessen Küvetten eine konstante Temperatur von 25° C aufwiesen. Die Wellenlänge des eingesetzten Filters betrug 366 nm. Die Testsubstanzen für die jeweiligen Enzyme haben wir von der Firma Boehringer/Mannheim bezogen:

Im Einzelnen haben wir folgende Enzyme gemessen:

1) Phosphoglukose-Isomerase (PGI)
2) Hexokinase (HK)
3) Enolase (ENOL)
4) Pyruvat-Kinase (PK)
5) Lactat-Dehydrogenase (LDH)
6) Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

PHOSPHOGLUKOSE - ISOMERASE

1933 entdeckte LOHMANN (58) dieses Enzym, 1959 wurde es von NOLTMANN und BRUNS (68) rein dargestellt, 1960 von KLOTZSCH und BERGMEYER (46) kristallisiert. Das Enzym katalysiert die Umsetzung von Fruktose-6-phosphat zu Glukose-6-phosphat. Wir haben die Aktivität der P G I im zusammengesetzten optischen Test gemessen.

Die eigentliche Reaktion zeigt Gleichung 1

(1) Fruktose-6-phosphat $\xrightarrow{PGI}$ Glukose-6-phosphat

In einer zweiten Reaktion wird zu der entstandenen Menge Glukose-6-phosphat Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP) hinzugegeben und unter der Wirkung von Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase entsteht
6-Phosphoglukonat + NADP + H^+ (Gleichung 2)

(2) Glukose-6-phosphat $\xrightarrow{G\text{-}6\text{-}PDH}$ 6-Phosphoglukonat + NADP + H^+.

Das entstehende NADP +H^+ ist die entscheidende Meßgröße, die im UV Licht gemessen wird. Der Test wurde nach der bekannten Methode durchgeführt. Wir haben 0,3 ml 1:100 verdünnter Enzymlösung zu dem Testansatz hinzugegeben. Diese Änderung hat sich in den Versuchen der Vorserie als optimal erwiesen. Die Ausrechnung der gefundenen Extinktionen wurde nach folgender Formel vorgenommen:

$$\frac{\text{d/E/min x Testvolumen x 1000 x Verdünnungsfaktor}}{\text{3,3 x Volumen der eingesetzten Testlösung}} \times 100$$

Erklärung zu den einzelnen Größen der Formel:
Testvolumen = 3,03 ml
Verdünnungsfaktor = 1g + 10 cm^3 = 11
x 100 = Verdünnung der Enzymlösung
3,3 = Faktor des NADP
Volumen der eingesetzten Testlösung = 0,3 ml
1 = Schichtdicke der Küvette

HEXOKINASE

Das Enzym Hexokinase wurde 1927 von O. MEYERHOFF (64) in der Hefe entdeckt. Die Kristallisation des Enzyms gelang 1946 BERGER (10) sowie KUNITZ und MC DONALD (51). Die Hexokinase katalysiert die Umsetzung von (Gleichung 1)

(1) Hexose + ATP = ---- = Hexose-6-phosphat + ADP

Wir haben die Aktivität der HK im zusammengesetzten optischen Test gemessen. In einer 2. Reaktion wird dem entstandenen Glukose-6-phosphat TPN hinzugegeben, und unter der Wirkung von Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase entsteht 6-Phosphoglukonat + NADP $+H^+$ (Gleichung 2)

(2) Glukose-6-phosphat + TPN = $\frac{\text{G-6-PDH}}{\text{-------}}$ = 6-Phosphoglukonat + NADP + H^+

Das entstehende NADP + H^+ ist die entscheidende Meßgröße, die im UV Licht gemessen wird. Es wurden 0,4 ml der unverdünnten Enzymlösung zu dem Testansatz hinzugegeben. Die Ausrechnungen der gefundenen Extinktionen wurden nach folgender Formel vorgenommen:

$$\frac{\text{d/E/min x Testvolumen x 1000 x Verdünnungsfaktor}}{\text{3,3 x Volumen der eingesetzten Testlösung x 1}}$$

Erklärung der einzelnen Größen der Formel:

Testvolumen = 3,41
Verdünnungsfaktor = 1 g + 10 cm^3 = 11
3,3 = Faktor des NADP
Volumen der eingesetzten Testlösung = 0,4 ml
1 = Schichtdicke der Küvette

Die in dem Test abgekürzte Bezeichnung ATP entspricht Adenosin-triphosphat, ADP - Adenosin-diphosphat.

ENOLASE

1934 entdeckten LOHMANN und MEYERHOF (57) dieses Enzym, 1941 wurde es von WARBURG und CHRISTIAN (99) erstmals als Quecksilber-Enzym-Komplex kristallisiert. Die Enolase katalysiert die Umsetzung von (Gleichung 1)

(1) Phospho-enol-pyruvat + H_2O = $\overset{Mg^{++}}{\text{---}}$ = 2-Phosphoglycerat

in Gegenwart von Mg^{++}.

Die Aktivität der Enolase wurde im zusammengesetzten optischen Test gemessen. Hierbei sind die Pyruvat-Kinase und die Lactat-Dehydrogenase Hilfsenzyme, die Abnahme der NADH-Extinktion ist die Meßgröße. Der Test läuft wie in den Gleichungen 1 - 3 dargestellt ab.

(1) 2-PG = $\overset{\text{Enolase, } Mg^{++}}{\text{---}}$ = PEP + H_2O

(2) PEP + ADP = $\overset{\text{Pyruvatkinase}}{K^+,\ Mg^{++}}$ = Pyruvat + ATP

(3) Pyruvat + NADH + H^+ = $\overset{LDH}{\text{---}}$ = L-Lactat + NAD^+

Als optimal erwies sich der Einsatz von 0,05 ml der Enzymlösung zu dem Testansatz. Die Ausrechnungen der gefundenen Extinktionen wurden nach folgender Formel vorgenommen:

$$\frac{\text{d/E/min x Testvolumen x 1000 x Verdünnungsfaktor}}{\text{3,3 x Volumen der Ausgangstestlösung x 1}}$$

Erklärung der einzelnen Größen der Formel:

Testvolumen = gesamter Küvetteninhalt = 2,99
Verdünnungsfaktor = 1 g Lebergewebe + 10 cm^3 Puffer = 11
3,3 = Faktor der Meßgröße (NAD)
Volumen der Ausgangstestlösung = 0,05 ml
1 = Schichtdicke der Küvette

PYRUVAT-KINASE

1934 beschrieben LOHMANN (57) und MEYERHOF (65) dieses Enzym. 1944 kristallisierten KUBOWITZ und OTT (50) das Enzym aus den menschlichen Muskeln. Die Pyruvat-Kinase katalysiert folgende Reaktion (Gleichung 1)

(1) Phosphoenol-pyruvat + ADP = $\xrightarrow[K^+,\ Mg^{++}]{}$ = Pyruvat + ATP

Die Aktivität der Pyruvat-Kinase wurde im zusammengesetzten optischen Test nach dem Prinzip von NEGELEIN gemessen, Gl. 1 und Gl. 2. LDH dient als Indikatorsystem, die Abnahme der NADH-Extinktion ist Meßgröße.

(1) Phospho-enol-pyruvat + ADP = $\xrightarrow[K^+,\ Mg^{++}]{P\ K}$ = Pyruvat + ATP

(2) Pyruvat + NADH + H^+ = $\xrightarrow{LDH}$ = L-Lactat + NAD^+

Aufgrund der Vorversuche erwies sich der Einsatz einer 100-fach verdünnten Ausgangslösung als optimal. Die Extinktionsänderungen, umgerechnet auf mU, waren einer von der Firma Boehringer gelieferten Tabelle (nach Multiplikation mit 100) zu entnehmen.

LACTAT-DEHYDROGENASE

1940 kristallisierte STRAUB (90) zuerst das Enzym aus Herzmuskel, später fanden es auch KUBOWITZ und OTT (49) im Rattenmuskel. Die Lactat-Dehydrogenase katalysiert folgende Umsetzung (Gl. 1):

(1) L(+)-Lactat + NAD^+ = $\xrightarrow{\quad\quad}$ = Pyruvat + NADH + H^+

Die Aktivität der LDH kann im einfachen optischen Test gemessen werden, wobei die Abnahme der NADH - Extinktion die Meßgröße ist.

Entsprechend den Erfahrungen aus der Vorserie haben wir unsere Enzymlösung auf 1 : 100 verdünnt. Die Extinktionsänderungen, umgerechnet auf mU, konnten wir mit dem Faktor 100 multipliziert aus der mitgelieferten Tabelle entnehmen.

GLUTAMAT-PYRUVAT-TRANSAMINASE

1945 haben LEONHARD und STRAUB (56) die GPT erstmalig isoliert. Das Enzym läßt sich aus der Leber und dem Herzmuskel kristallisieren. Die Glutamat-Pyruvat-Transaminase katalysiert die Umsetzung (Gl. 1)

(1) L-Alanin + α-Ketoglutarat = ------- = Pyruvat+Glutamat

Die Aktivität der GPT haben wir im zusammengesetzten optischen Test nach PFLEIDERER u.a. gemessen. Das in Gleichung 1 entstehende Pyruvat ist ausschlaggebend für eine zweite Indikatorreaktion (Gl. 2).

(2) $Pyruvat + NADH + H^+ = \overset{LDH}{-----} = Lactat + NAD^+$

Der NADH Verbrauch ist hierbei die gemessene Größe. Bei diesem Enzym erwies es sich als notwendig, die Ausgangslösung auf 1:10 zu verdünnen. Die Extinktionsänderungen konnten, entsprechend umgerechnet in mU, auf der beiliegenden Tabelle abgelesen werden. Diese Werte multiplizierten wir analog zu unserer Verdünnung der Enzymlösung mit 10.

BESTIMMUNG DES PROTEINGEHALTES IM LEBERHOMOGENAT

Um eine Korrelation zwischen Proteingehalt des Leberhomogenates und Enzymaktivität aufstellen zu können, bestimmten wir den Proteingehalt der normalen und nachwachsenden Rattenleber im Homogenat.

Die Proteinbestimmung nahmen wir nach zwei verschiedenen Methoden vor:

I: Gesamtstickstoff nach KJELDAHL.
Prinzip: Die Testlösung wird mit konzentrierter H_2SO_4 und einem Katalysator (Selengemisch) verascht und das entstandene Ammoniak mit konzentrierter NaOH aus dem Reaktionsgemisch abdestilliert, in n/10 H_2SO_4 aufgefangen und mit n/10 NaOH gegen einen Mischindikator (Methylrot) titriert.
Reagenzien: 0,1 ml Testlösung, Selengemisch, 1ml konz. H_2SO_4 (Faktor 1,84), 33% NaOH, n/10 NaOH, n/10 H_2SO_4, Methylrot in C_2H_5OH.
Ausrechnung: Verbrauchte Säuremenge mit dem Faktor 87,5 (Faktor für Gesamtstickstoffbestimmung im Serum) multipliziert ergibt g Eiweiß/100 ml.

II. Gesamteiweißbestimmung nach der BIURETmethode.
Prinzip: Die Biuretbindungen des Eiweißes bilden mit dem Biuretreagenz einen blauvioletten Farbkomplex, dessen Extinktion in 20 mm Küvetten mit dem Filter Hg 546 nm gegen den Leerwert gemessen wird.
Reagenzien: 0,1 ml Testlösung, 5 ml 0,9% NaCl-Lösung (10 ml bei dem Leerwert), 5 ml Biuretreagens von ASID (zur Eiweißbestimmung in Serum, Urin und Liquor Op. Nr. 3117, ASID Institut GMBH München-Lohhof).
Ausrechnung: d E x 17,3 ergibt g Eiweiß/100ml (aus Eppendorf, Photometrische Methoden, AV 530)

Auf dem Diagramm (Abb. 10 e), das die Proteingehaltsänderungen darstellt, ist deutlich zu erkennen, daß beide Methoden der Eiweißbestimmung nahezu die gleichen Werte liefern.

ERGEBNISSE DER EXPERIMENTELLEN UNTERSUCHUNGEN

Auf den folgenden Seiten sind Tabellen und Kurven dargestellt, die die Aktivitätsänderungen der einzelnen Enzyme wiedergeben.

Für die Normalwerte, d.h. Aktivitätsbestimmungen der vollständigen gesunden Rattenleber, dienten 5 Tiere pro Enzym. In den anschließenden Serien haben wir die Enzymaktivitätsänderungen im regelmäßigen Abstand von 24 Stunden bestimmt. Die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe haben wir nicht mit in die Arbeit einbezogen, da sich im Verlauf dieser Bestimmungen noch geringfügige methodische Veränderungen als notwendig erwiesen haben. Dadurch war es nicht möglich, einen einheitlichen Bewertungsmaßstab anzulegen, obwohl die Werte prinzipiell denen der Hauptserien (2 + 3) entsprachen.

In der 2. Untersuchungsreihe über 10 Tage Regenerationsdauer wurden 2 Tiere pro Tag für die Aktivitätsbestimmungen herangezogen.

Die wichtigsten Punkte der aus dieser Reihe entstandenen Kurve haben wir durch eine 3. Versuchsserie unterstützt. Die Werte von jeweils drei Tieren am 2., 4. und 5. Tag der Regeneration des Organs vervollständigten das Endergebnis.

Wir ermittelten alle Werte in Doppelmessungen. Insgesamt wurden 81 Tiere für die vorliegende Arbeit herangezogen.

GEWICHTE DER LEBERREGENERATE

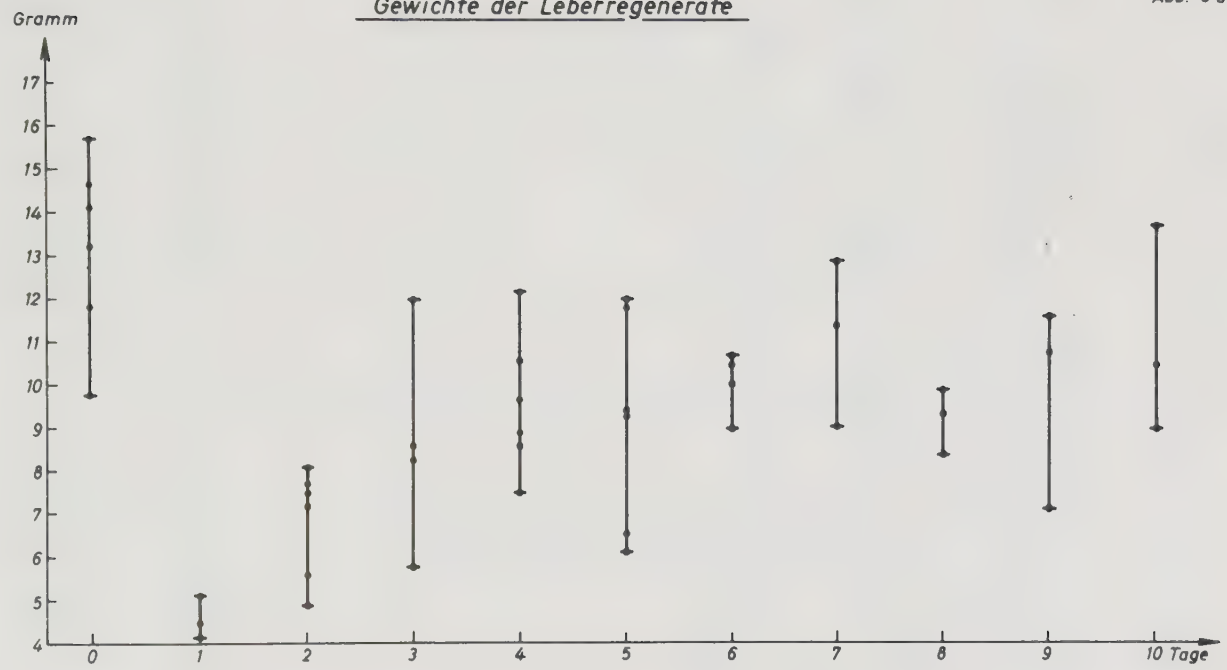
Tab. a und Abb. 9a zeigen die Gewichtsveränderungen der herausgenommenen Leber nach einer bestimmten Regenerationsdauer.

Tab. a

Gewichte der Leberregenerate in g (Gramm)

Reg.Dauer Tage	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
An-zahl											
1	9,87	4,46	4,92	5,88	8,60	6,11	9,07	9,06	8,43	7,13	9,00
2	13,24	5,04	8,10	8,62	12,18	12,07	10,59	12,92	9,82	11,62	10,56
3	15,64	4,28	7,59	8,32	9,77	9,30	10,78	11,42	9,44	10,82	13,73
4	11,86	-	5,63	12,02	8,90	11,87	-	-	-	-	-
5	14,16	-	7,24	-	10,69	6,59	-	-	-	-	-
6	14,69	-	7,73	-	7,57	9,47	-	-	-	-	-

Abb. 9 a


Gewichte der Leberregenerate
Gramm
17
16
15
14
13
12
11
10
9
8
7
6
5
4
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage

ENZYMAKTIVITÄTEN DER NORMALEN UND REGENERIERENDEN RATTENLEBER (Tab. b, c, d)

Die Tab. b zeigt die Enzymaktivitäten der Phospho-Glukose-Isomerase, Hexokinase, Pyruvat-Kinase, Enolase, Lactat-Dehydrogenase und der Glutamat-Pyruvat-Transaminase, bestimmt in der normalen Rattenleber.

Die Tab. c zeigt die Enzymaktivitätsänderungen der regenerierenden Rattenleber, je 4 Werte pro Regenerationstag, Dauer 10 Tage.

Die Tab. d unterstützt die wichtigsten Werte der vorhergehenden Tabelle durch Enzymaktivitätsbestimmungen in der 3. Serie.

Tab. b

N O R M A L W E R T E

ENZYMAKTIVITÄTEN DER INTAKTEN, NORMALEN RATTENLEBER.

Tiere	1	2	3	4	5	Durchschnitt
P-G-I	521,9	404,0	370,4	404,0	420,8	423,9
	505,1	387,2	333,5	370,0	471,3	
H-K	710,5	809,8	670,7	738,9	824,1	735,2
	710,5	871,5	686,0	695,4	724,7	
P-K	410,0	388,8	338,0	386,8	386,8	379,9
	386,8	327,8	377,0	449,0	347,8	
ENOL	13953	14949	14949	13853	12053	14221
	14949		14949	14750	12856	
L-D-H	25238	29550	23418	26268	23880	25435
	23418	29550	28600	22940	21488	
G-P-T	900	980	1232	900	1243	1077,2
	805	1005	1288	1176	1243	

5 Tiere pro Enzym, jeder Wert wurde in Doppelmessungen bestimmt.
Die Einheit der Werte ist mU

Tab. c

ENZYMAKTIVITÄTEN DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER, 2. SERIE

Enzyme	P-G-I	H-K	P-K	ENOL	L-D-H	G-P-T
Tag 1	487,2	732,3	279,0	11959	23418	956,2
	420,8	726,5	327,8	12458	26268	883,2
	420,8	525,8	279,0	12956	28600	1176,2
	444,5	539,9	298,0	12757	24830	1068,2
Tag 2	404,0	823,7	347,8	14949	31938	726,2
	420,8	937,8	318,0	14949	31938	805,0
	444,5	980,5	390,0	15448	35768	670,0
	437,7	866,8	410,0	14850	36400	692,0
Tag 3	488,2	1151,0	488,0	18039	28600	551,2
	505,0	1065,7	488,0	18936	25308	393,2
	488,2	781,6	508,0	21723	29550	585,0
	488,2	781,6	508,0	21122	29600	551,2
Tag 4	471,1	1591,5	517,8	18437	21010	670,0
	420,8	1818,9	488,0	17441	23880	692,2
	420,8	1278,9	458,8	17042	27538	551,7
	420,8	1278,9	488,0	17042	24358	562,4
Tag 5	454,6	1503,2	517,8	15946	22940	303,1
	437,7	1321,5	638,8	16145	23880	370,9
	420,8	1165,2	517,8	16145	27700	450,5
	370,3	1136,8	469,0	16165	24830	483,8
Tag 6	286,2	1193,6	438,8	18737	17668	132,7
	336,7	1207,9	438,8	18737	20050	128,4
	370,4	1136,8	438,8	16444	21488	540,4
	387,2	994,7	438,8	17939	26268	472,8
Tag 7	407,7	1222,4	419,8	14152	24800	315,3
	373,4	1223,4	419,8	14152	22900	303,5
	336,0	1396,5	429,0	12956	21900	517,7
	373,4	1023,1	438,0	14351	27700	518,3
Tag 8	353,5	1406,2	456,0	13355	23880	551,2
	336,7	1477,5	390,0	14351	24358	551,2
	336,7	1136,8	390,0	12956	17218	573,3
	353,5	1136,8	429,0	12557	21010	573,6
Tag 9	370,3	1165,2	429,0	14700	23880	455,3
	336,0	1165,2	390,0	15750	20528	450,5
	336,0	966,3	429,0	15570	21488	573,6
	336,0	966,3	390,0	14919	23884	427,1
Tag 10	420,8	1035,7	399,8	14949	40310	562,4
	370,5	1035,7	478,8	15149	38400	540,3
	404,0	1406,7	429,0	14949	30988	388,4
	454,5	1406,7	488,0	14949	25790	400,7

2 Tiere pro Tag, jedes Enzym wurde in Doppelmessungen bestimmt. Die Einheit der Werte ist mU

Tab. d

ENZYMBESTIMMUNGEN IN DER REGENERIERENDEN RATTENLEBER, 3. SERIE

Tage	2.	3.	4.	5.
P-G-I	404,0		370,4	336,7
	420,8		370,4	336,7
	420,8	387,7	353,5	420,9
	370,5	424,3	387,2	370,4
	336,7		387,2	353,5
	336,0		387,2	420,0
H-K	496,3		11389	995,8
	454,7		12526	923,7
	568,4	1136,8	12941	909,4
	539,9	1035,7	11226	966,0
	525,7		11226	1207,9
	539,9		11226	1264,9
P-K	307,8		438,8	473,0
	358,0		429,0	429,0
	338,0	420,9	390,0	488,0
	358,0	471,4	410,0	478,8
	318,0		410,0	447,0
	358,0		386,8	488,0
ENOL	15448		11959	14052
	15149		11959	14750
	13953	16943	11959	12757
	14451	17441	12159	12019
	14451		14451	12458
	13953		14451	13155
L-D-H	35768		33240	28600
	38400		32768	29550
	35768	30988	30988	28600
	35768	29078	29078	29078
	33380		28600	29550
	33138		29550	29078
G-P-T	726,2		715,9	726,2
	805,0		715,9	726,2
	699,0	450,8	562,1	533,4
	756,0	550,8	641,2	542,2
	780,1		573,4	532,2
	773,8		573,4	582,2

Am 2., 4., 5. Tag wurden jeweils 3 Tiere zu Doppelbestimmungen herangezogen, am 3. Tag ein Tier. Die Einheit der Werte ist mU

PROTEINGEHALTSMESSUNGEN

Die Tab. e und die Abb. 10e zeigen Werte des Proteingehaltes der normalen und regenerierenden Rattenleber in g/100ml Homogenat, bestimmt nach zwei Methoden: "KJELDAHL" und "BIURET".

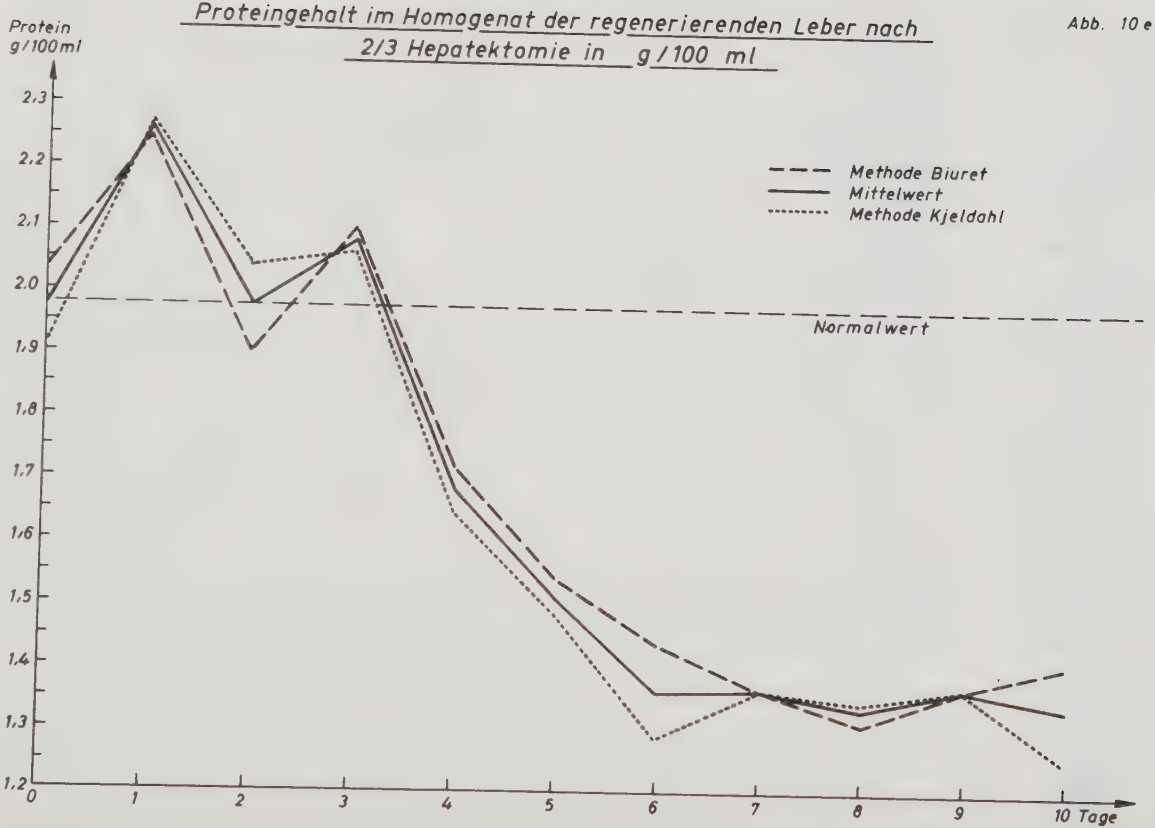
Die Normwerte haben wir von 5 Tieren in 10 KJELDAHL- und 10 BIURET-Bestimmungen gemessen. Der Proteingehalt während der Regeneration wurde an jedem Tag von 2 Tieren nach beiden Methoden in Doppelwerten ermittelt.

Tab. e

PROTEINGEHALT IM HOMOGENAT DER NORMALEN UND REGENERIERENDEN RATTENLEBER IN g/100 ml, BESTIMMT NACH ZWEI METHODEN: KJELDAHL und BIURET

	Kjeldahl	Biuret	Arithmet.Mittel
Norm	1,92	2,04	1,98
1. Tag	2,27	2,25	2,26
2. Tag	2,04	1,90	1,97
3. Tag	2,06	2,10	2,08
4. Tag	1,64	1,72	1,68
5. Tag	1,48	1,54	1,51
6. Tag	1,28	1,44	1,36
7. Tag	1,37	1,37	1,37
8. Tag	1,31	1,34	1,33
9. Tag	1,38	1,38	1,38
10. Tag	1,25	1,43	1,34

Abb. 10 e


Protein
g/100ml
Proteingehalt im Homogenat der regenerierenden Leber nach
2/3 Hepatektomie in g/100 ml
Methode Biuret
Mittelwert
Methode Kjeldahl
Normalwert
2,3
2,2
2,1
2,0
1,9
1,8
1,7
1,6
1,5
1,4
1,3
1,2
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage

ENZYMAKTIVITÄTSÄNDERUNGEN BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT

Tab. f, g, h, i, k, l./Abb. 11f, 12g, 13h, 14i, 15k, 16l.
Die folgenden Tabellen und Abbildungen zeigen die Enzymaktivitätsänderungen der normalen und regenerierenden Rattenleber bezogen auf den Proteingehalt der normalen bzw. regenerierenden Leber an den jeweiligen Tagen.

S T A T I S T I K
==========

Durch Varianzanalyse zwischen Meßreihen und BARTLETT-Test haben wir folgende Größen bestimmt:
Mittelwert, Standardabweichung und Signifikanz der Kurvenänderung.
Die Unterschiede in den Änderungen der Kurven erweisen sich als signifikant, da die Prüfquotienten (P) die Signifikanzschranke (F>2,7) übersteigen. Die Werte P und F sind auf den Kurven und Tabellen vermerkt.

Erläuterung: P_1 zeigt die Signifikanz der Änderung zwischen den Meßreihen 0 (Norm), 2., 4., und 5. Tag
P_2 zeigt die Signifikanz der Änderung zwischen den Meßreihen aller Beobachtungstage.

Anm:
Für die freundliche Hilfe bei der Erstellung dieser Statistik möchte ich mich bei Herrn Dipl.Mathematiker Bernd Knauer, Rechenzentrum Würzburg, sehr bedanken.

ENZYMWERTE DER P-G-I WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g). Einheit = $\frac{mU \cdot 100}{g}$ $P_1 = 10,18-2,87 = 7,31$ $P_2 = 10,26-1,99 = 8,27$

Reg.Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl											
1	263,5	215,5	205,0	234,7	280,4	301,0	210,4	297,5	265,6	268,3	314,0
2	255,1	190,7	213,6	242,7	250,4	289,8	247,5	272,5	253,1	243,4	276,4
3	204,0	190,7	225,6	234,7	250,4	278,6	272,3	245,2	253,1	243,4	301,4
4	195,5	196,6	222,2	234,7	250,4	245,2	284,7	272,5	265,6	243,6	339,1
5	187,0		205,0	186,3	220,4	222,9					
6	168,4		213,6	203,9	220,4	222,9					
7	204,0		213,6		210,4	278,6					
8	186,8		188,0		230,4	245,2					
9	212,5		170,9		230,4	234,1					
10	238,0		170,5		230,4	278,1					
Mittel-wert:	211,4	198,3	202,8	222,8	237,4	259,6	253,7	271,9	259,3	247,4	307,7
Streuung+	242,6	200,0	222,6	245,2	258,0	288,4	286,5	293,3	266,5	262,1	333,8
Streuung-	180,2	186,6	183,0	200,0	216,8	230,8	220,9	250,5	252,1	232,7	281,6

Tab. 8

ENZYMWERTE DER HEXOKINASE WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g). Einheit=$\frac{mU \cdot 100}{g}$ P_1 = 47,25-2,87 = 44,38 P_2 = 33,17-1,99 = 31,18

Reg.Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl											
1	358,8	324,0	418,1	553,3	947,3	995,4	877,6	892,2	1057,2	844,3	772,9
2	358,8	321,4	476,0	512,2	1082,6	875,1	888,1	892,9	1110,9	844,3	772,9
3	408,9	238,3	497,7	375,7	761,6	771,6	835,8	1019,3	854,7	700,2	1049,7
4	394,6	238,3	440,0	375,7	761,6	752,4	731,4	746,7	854,7	700,2	1049,7
5	338,7		251 9	546,5	677,9	659,4					
6	346,8		230,8	497,9	745,5	618,3					
7	373,1		288,5		770,2	602,2					
8	351,2		274,0		668,2	639,7					
9	416,2		266,8		668,2	799,3					
10	366,0		274,0		668,2	903,9					
Mittel-wert:	371,3	280,6	341,8	476,8	775,1	761,7	833,1	887,8	969,4	772,3	911,3
Streuung+	397,9	328,8	444,0	558,0	912,1	894,7	904,1	998,9	1103,5	855,5	1071,1
Streuung-	344,6	232,4	238,0	395,6	638,1	628,7	762,1	776,7	835,3	689,1	751,5

Tab. h

ENZYMWERTE DER ENOLASE WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g) Einheit $\frac{mU.100}{g}$ $P_1 = 14,45-2,87 = 11,58$ $P_2 = 34,12-1,99 = 32,13$

Reg.Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl											
1	7046	5291	7588	8672	10977	10560	13777	10329	10041	10652	11155
2	7550	5512	7588	9103	10381	10692	13777	10329	10790	11413	11305
3	7550	5732	7842	10443	10144	10692	12091	9456	9741	11413	11155
4	7550	5644	7538	10154	10144	10692	13190	10475	9441	10810	11155
5	7550		7842	9102	7713	9305					
6	7550		7689	8385	7713	9768					
7	6996		7082		7237	8448					
8	7449		7335		8601	7959					
9	6087		7335		7713	8250					
10	6492		7082		8601	8711					
Mittel-wert:	7182	5544	7492	9309	8922	9507	13209	10147	10003	11072	11192
Streuung+	7705	5735	7768	10124	10286	10620	14004	10612	10582	11470	11267
Streuung-	6659	5353	7216	8494	7558	8394	12414	9682	9424	10683	11117

Tab. 1

ENZYMWERTE DER PYRUVAT-KINASE WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g) Einheit = $\frac{mU.100}{g}$ P_1 = 69,83-2,87 = 66,96 P_2 = 54,17-1,99 = 52,18.

Reg. Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl											
1	207,0	123,4	176,5	234,6	308,2	342,9	322,6	306,4	342,8	310,8	298,3
2	194,9	145,0	161,4	243,6	290,4	423,0	322,6	306,4	293,2	282,6	357,3
3	196,3	123,4	197,9	244,2	273,0	342,9	322,6	313,1	293,2	310,8	320,1
4	165,5	131,0	208,1	244,2	290,4	310,6	322,6	319,7	322,5	282,6	364,1
5	170,7		156,2	202,3	261,2	313,2					
6	190,4		181,7	226,6	255,3	284,1					
7	195,3		171,5		232,1	323,1					
8	226,7		181,7		244,0	317,0					
9	195,3		161,4		291,6	296,0					
10	175,6		181,7		230,2	323,1					
Mittel-wert:	191,8	130,9	177,8	231,1	267,6	327,6	322,6	311,4	312,9	296,7	335,1
Streuung+	209,7	140,9	194,2	246,7	294,9	365,5	322,6	317,7	337,1	313,0	366,1
Streuung-	173,9	120,9	161,4	215,5	240,3	289,7	322,6	305,1	288,7	280,4	304,0

Tab. k

ENZYMWERTE DER L D H WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g) Einheit = $\frac{mU \cdot 100}{g}$ P_1 = 19,78-2,87 = 16,91 P_2 = 22,49-1,99 =20,50

Reg.Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Anzahl										
1	12746	10361	16212	13750	12505	15192	12999	18102	17954	17304
2	11827	11623	16212	12167	14214	15814	14742	16715	18314	14875
3	14924	12654	18156	14206	16391	18344	15800	15985	12945	15571
4	11827	10986	18477	14230	14498	16443	19314	20218	15796	17307
5	14444		18156	14898	19785	18940				
6	13266		19492	13979	19504	19569				
7	11585		18156		18445	18940				
8	12060		18156		17308	19256				
9	10852		16944		17023	19569				
10	14924		16821		17589	19256				
Mittel-wert:	12854	11406	17678	13872	16726	18132	15714	17755	16252	16264
Streuung+	14325	12352	18748	14792	19092	19794	18377	19616	18720	17496
Streuung-	11365	10430	16608	12952	14360	16470	13051	15894	13784	15032

Tab. 1

ENZYMWERTE DER G P T WÄHREND DER LEBERREGENERATION BEZOGEN AUF DEN PROTEINGEHALT DER REG. LEBER (1g) Einheit = $\frac{mU \cdot 100}{g}$ P_1 = 24,81-2,87 = 21,94 P_2 = 17,89-1,99=15,90

Reg. Dauer in Tagen	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Anzahl											
1	454,2	423,1	368,6	265,0	398,8	200,7	171,1	230,1	414,4	329,9	419,7
2	406,4	390,7	408,6	189,0	412,0	245,6	167,9	221,5	414,4	326,4	403,2
3	494,4	520,4	340,1	281,2	328,3	298,3	250,2	377,8	431,0	415,6	289,8
4	507,5	472,6	351,2	265,0	334,7	320,3	274,1	378,3	431,0	309,4	299,0
5	622,2		368,6	216,7	426,1	414,7					
6	650,5		408,6	264,8	426,1	355,0					
7	454,5		354,8		334,5	353,2					
8	593,9		383,7		381,6	359,4					
9	627,7		395,9		341,3	352,0					
10	627,6		392,7		341,3	385,6					
Mittel-wert:	543,9	451,7	377,2	246,9	372,5	328,4	216,0	276,9	422,7	345,3	352,9
Streuung+	633,4	508,3	401,4	282,7	413,5	393,2	270,2	348,9	432,2	392,8	420,9
Streuung-	454,4	395,1	353,0	211,1	331,5	263,6	161,8	204,9	413,2	297,8	284,9

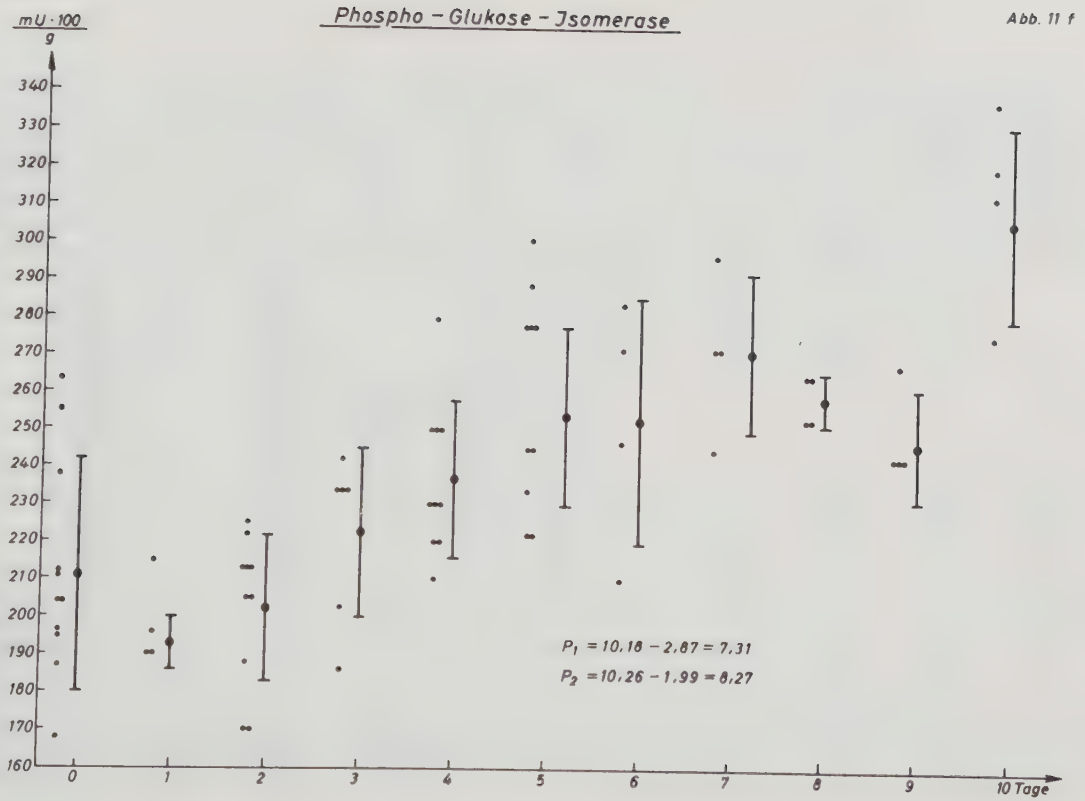

mU · 100
g
Phospho – Glukose – Isomerase
Abb. 11 f
340
330
320
310
300
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage
$P_1 = 10,18 - 2,87 = 7,31$
$P_2 = 10,26 - 1,99 = 8,27$

Abb 12 g

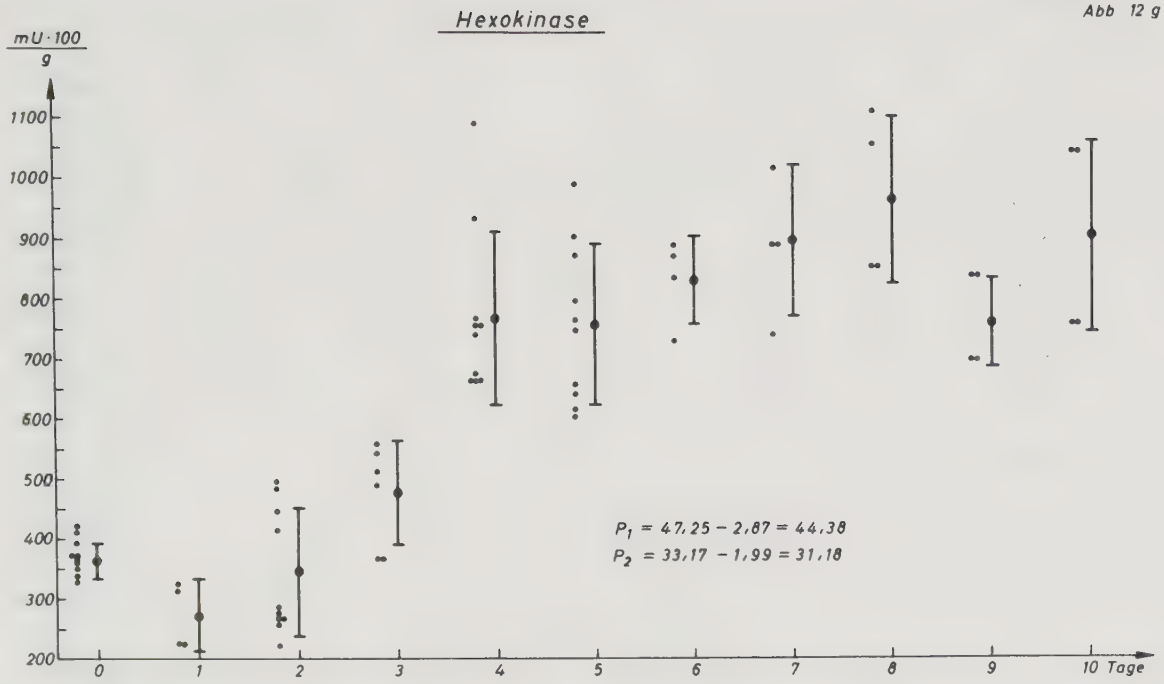

Hexokinase
mU · 100
g
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage
P_1 = 47,25 − 2,87 = 44,38
P_2 = 33,17 − 1,99 = 31,18

Abb. 13 h

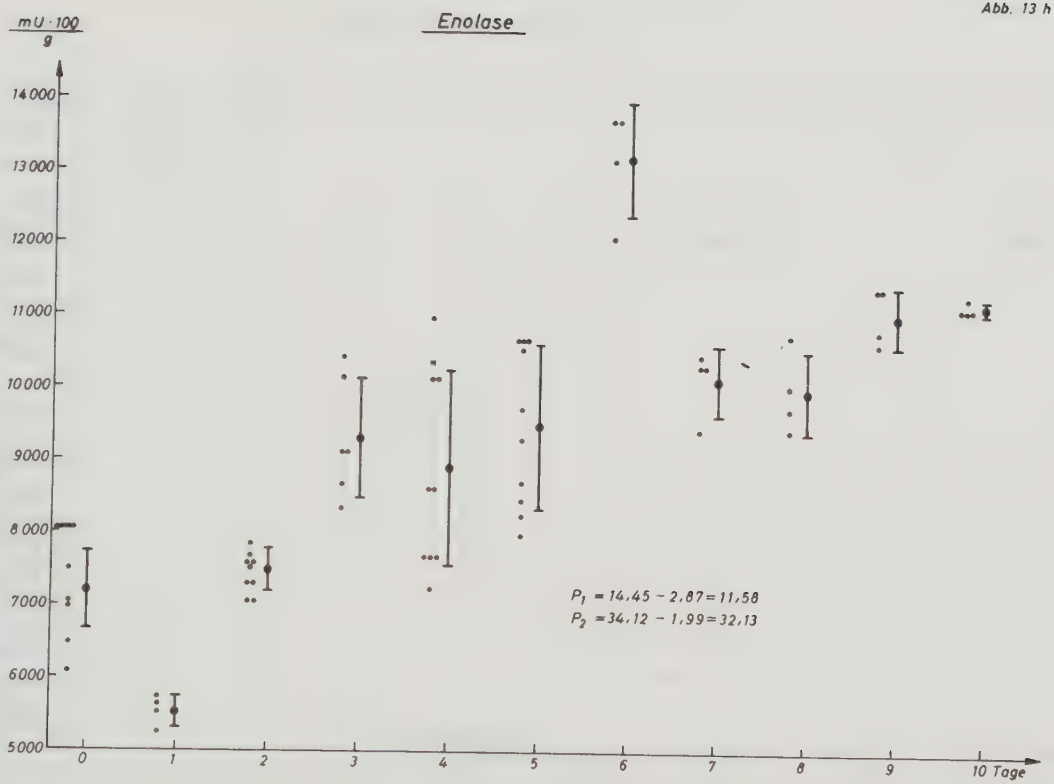

mU · 100 / g
Enolase
14000
13000
12000
11000
10000
9000
8000
7000
6000
5000
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage
P1 = 14,45 - 2,87 = 11,58
P2 = 34,12 - 1,99 = 32,13

Abb. 14 i

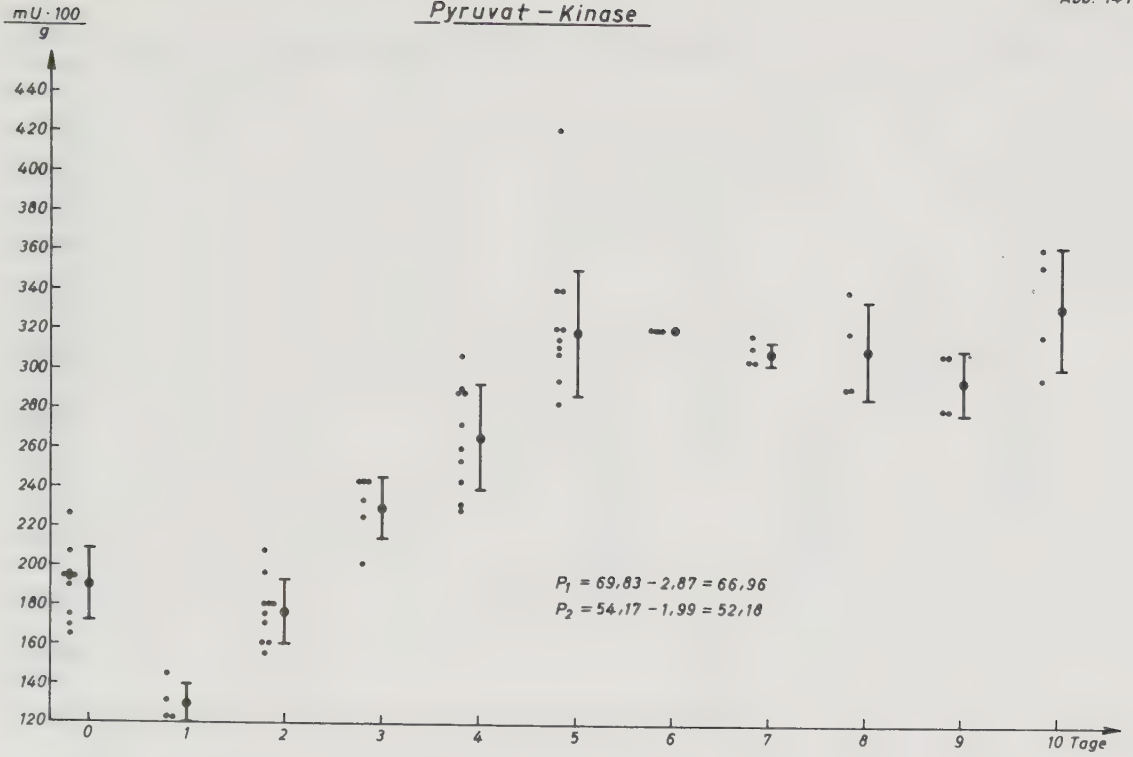
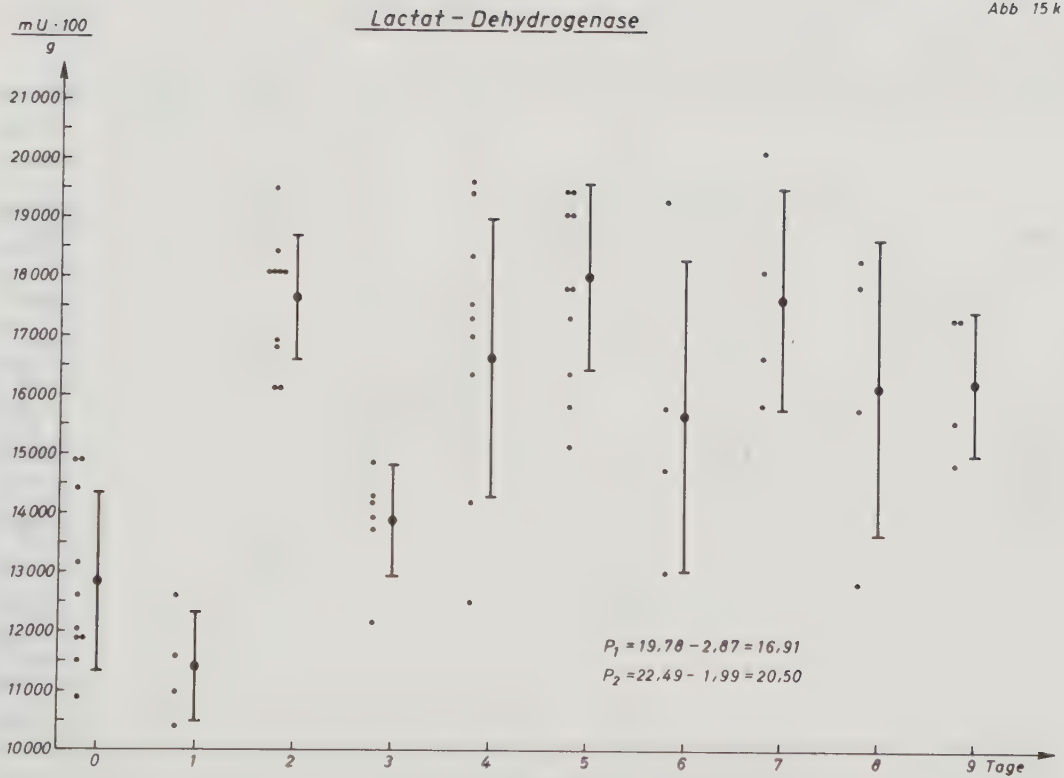
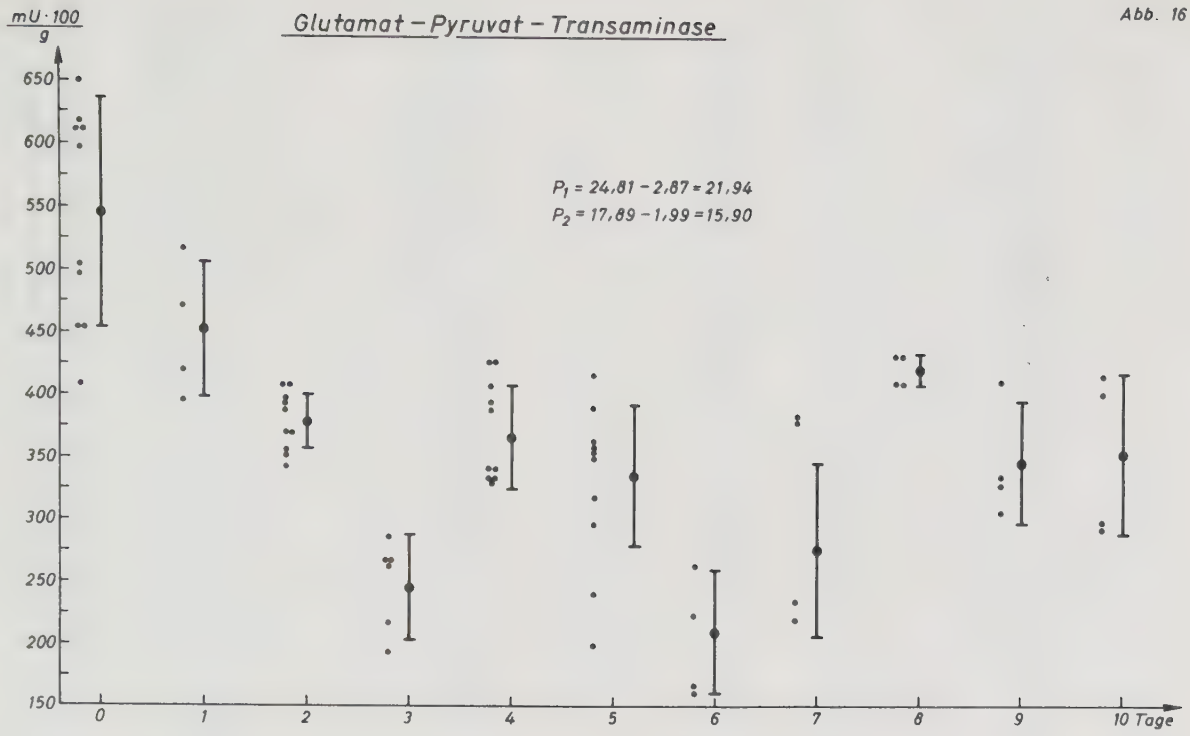

mU · 100 / g
Pyruvat – Kinase
440
420
400
380
360
340
320
300
280
260
240
220
200
180
160
140
120
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage
P1 = 69,83 – 2,87 = 66,96
P2 = 54,17 – 1,99 = 52,18

Abb 15 k


Lactat – Dehydrogenase
mU · 100 / g
21 000
20000
19000
18 000
17000
16000
15000
14 000
13 000
12000
11000
10000
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9 Tage
P_1 = 19,78 – 2,87 = 16,91
P_2 = 22,49 – 1,99 = 20,50


mU·100
g
Glutamat – Pyruvat – Transaminase
Abb. 16 l
$P_1 = 24{,}81 - 2{,}87 = 21{,}94$
$P_2 = 17{,}89 - 1{,}99 = 15{,}90$
650
600
550
500
450
400
350
300
250
200
150
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10 Tage

DISKUSSION

Nachdem nun in den vergangenen Kapiteln die in der Spezialliteratur erwähnten Theorien und die allgemeinen Vorstellungen über die Leberregeneration kurz gestreift worden sind, wollen wir nun versuchen, unsere eigenen Gedanken über die Ursachen der Regeneration der Leber darzulegen.

Mit den Versuchen über den K-H Stoffwechsel haben wir uns einem ganz kleinen Teilgebiet dieses noch nicht annähernd überschaubaren Problems zugewandt.

Der Tierorganismus befindet sich nach der partiellen Leberresektion in einer durch folgende Faktoren bestimmten Situation:

1) Schock der Operation
2) Stress, der vorwiegend durch die aufkommende Hypoglykämie bedingt ist (62).

Diese, durch ein Mißverhältnis zwischen Angebot und Nachfrage der einzelnen K-H Metaboliten hervorgerufene Hypoglykämie, kann man sicher durch mindestens 2 Tatsachen begründen:

1) Verlust von 2/3 des Glykogendepots
2) Verlust von 2/3 des Glukoneogeneseapparates

Inwieweit mit dem entfernten Teil der Leber der mögliche Abbauort des Insulins weggenommen wurde, und damit ein erhöhter Plasmainsulinspiegel die Hypoglykämie mitbedingt, ist bisher noch nicht eindeutig geklärt worden. Die Leber ist gezwungen, auf diese Veränderung im Stoffwechsel zu reagieren.

Die verbleibenden Enzymaktivitäten der Restleber nach 2/3 Hepatektomie werden durch Umschaltung auf Glukoneogenese voll ausgenutzt und katalysieren jetzt in diese n o t wendige

Richtung. Die extreme Mehrbelastung, in unserem Falle eines Zweiges des K-H Metabolismus, wird zwangsläufig als Reiz über die einzelnen Stoffwechselstufen bis auf den genetischen Apparat des Zellkerns zurückübertragen und bewirkt dort die Auslösung der benötigten Enzymneusynthesen. Darin ist das Bestreben zu sehen, die gestörte Stoffwechsellage in den ursprünglichen Zustand eines Fließgleichgewichtes einzuregulieren.

Gemäß unserem heutigen Wissensstand gibt es mehrere Arbeitshypothesen über den Ablauf der Enzyminduktionen, die der Anschaulichkeit halber nur kurz referiert werden sollen.

JACOB und MONOD (66, 44) vertreten die Meinung, daß gewisse Stoffwechselfaktoren, in unserem Falle die extreme M e h r b e l a s t u n g a l s f u n k t i o n e l l e r , m e t a b o l i s c h e r R e i z , regulierend bei der Informationsübertragung von genetischer DNS auf RNS eingreifen, die der eigentlichen Proteinsynthese an den Ribosomen vorausgeht.

Wird die Proteinsynthese gehemmt, so spricht man von Repression, wird sie inganggesetzt, so spricht man von Induktion. Diese Steuerung im Zusammenhang mit einem "feedback-Mechanismus" ist in folgendem Schema dargestellt (Abb. 18).

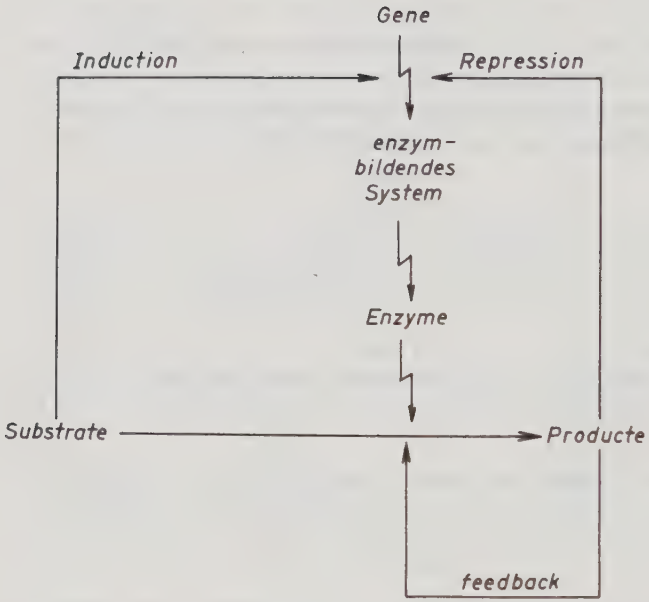


Abb. 18 aus HOLZER, Biochemie der Enzyme

Allgemeines Schema der Regulation des Stoffwechsels und der Genaktivität (39).

Eine weitere Hypothese über einen Mechanismus von Enzyminduktion hat SZILARD (93) aufgestellt. In dieser wirkt ein Repressor, der sich aus zwei Komponenten zusammensetzt (R-moiety, M-moiety), am Ort der Enzymsynthese selbst. Diese Konstellation ist vergleichbar mit der Wechselwirkung zwischen Hapten und Antigen. Ein Induktor vermag durch seine strukturelle Ähnlichkeit mit dem

Repressor diesen kompetetiv am Ort der Enzymsynthese zu hemmen. Folgendes Schema dient zur näheren Erklärung dieser Hypothese (Abb. 19).

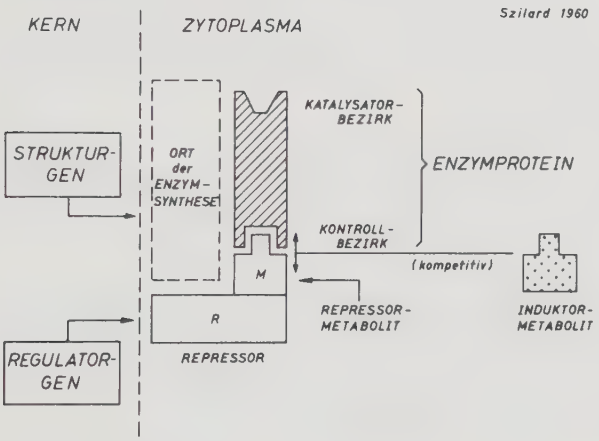


Abb. 19 aus F. LINNEWEH, "Erbliche Stoffwechselkrankheiten" 1962, Seite 137

Auf einem dieser eben beschriebenen Wege dürfte die vermehrte funktionelle Beanspruchung die von uns beobachtete Enzymneubildung anregen. Übersteigen die notwendig gewordenen Stoffwechselvorgänge die Kapazität der vorhandenen Zellen, so sehen wir darin den Anreiz zur Zellneubildung, sofern die zu lösenden Aufgaben im Metabolismus nur dadurch zu bewältigen sind.

HEPATEKTOMIE UND HORMONHAUSHALT

Da die Leber in vielfacher Weise mit dem Hormonmetabolismus gekoppelt ist, kann man annehmen, daß auch endokrinologische Faktoren die Enzyminduktion beeinflussen. Vor allem im Stoffwechsel der Steroidhormone spielt die Leber eine entscheidende Rolle als dritter Partner des Hypophysen-Nebennierenrinden-systems (Lit. bei 14).

Mit der Verkleinerung des Abbauorganes Leber und unter dem Stress der Operation steigt der Blutsteroidhormonspiegel wahrscheinlich, sicher aber ist seine Umsatzrate in der Restleber erhöht.

Viele der als schädigungsbedingte Folgen angesehenen Phänomene, könnten in Wirklichkeit als Auswirkung der veränderten endokrinen Einflüsse angesehen werden.

Die in der Literatur so oft beschriebene und auch in unseren Versuchen deutlich beobachtete rasch einsetzende Verfettung der Leber am ersten Tag nach der Operation (35), wäre durch den Einfluß eines erhöhten Cortisolspiegels mit zu erklären.

Das Absinken verschiedener Plasmaeiweißfraktionen würde gut mit dem katabolen Effekt der Steroidhormone übereinstimmen. Auch die geschilderten Veränderungen, wie die Einlagerung von Fett und Fibrinogen in die Leberzellen, könnten durch endokrinologische Einflüsse mit verursacht sein.

Auf Grund unserer bisherigen Versuche möchten wir annehmen, daß das Einströmen von Fett und Proteinen in die Leber nach 2/3 Hepatektomie Ausdruck eines biologisch sinnvollen Geschehens darstellt, da das Organ offensichtlich in diesem Zustand zu einer erstaunlich raschen Regeneration fähig ist, was von einem zusätzlich schwer geschädigten Organ (Fettleber!) nicht ohne weiteres zu erwarten wäre.

DISKUSSION DER GEFUNDENEN ENZYMAKTIVITÄTSÄNDERUNGEN

Wir haben jede gefundene Enzymaktivitätsänderung auf den Proteingehalt im Homogenat der regenerierenden Leber bezogen und im Verhältnis zu diesem betrachtet.

Der Gehalt an Eiweiß steigt in den ersten 48 Stunden geringfügig an, um später bis zu dem 6.-8. Tag 45% zu fallen. Dadurch kommt es, relativ gesehen, zu einem höheren Ansteigen der Aktivitätskurven und zu einer zeitlichen Verschiebung des Anstiegs der einzelnen Enzyme. Wir möchten die anfänglich geringfügige Vermehrung und den späteren Abfall des Proteingehaltes im Leberhomogenat während der Regeneration als Ausdruck dafür werten, daß die Leber zunächst Aminosäuren oder Proteine (Absinken der Albuminfraktion !) aus möglichen Depots (Blut) an sich zieht. Mit zunehmender Regenerationsgeschwindigkeit wird für die neu entstehenden Zellen das vorhandene Protein benötigt. Somit sinkt der Eiweißgehalt der einzelnen Parenchymzellen, um dann mit Abnahme der Regenerationsgeschwindigkeit wieder seine normale Höhe zu erreichen.

Der Vergleich unserer Ergebnisse mit Aufzeichnungen in der Literatur - Untersuchungen BENGMARKS und OLSSONS zur GPT (6) - läßt, sofern die bisher spärlichen parallelen Versuche zeigen, eine gute Übereinstimmung erkennen.

GLUTAMAT - PYRUVAT - TRANSAMINASE

Bei BENGMARK und OLSSON (6) fällt die GPT in den ersten drei Tagen steil ab (um ca. 50%) und nähert sich in einem Zeitraum von 8 Wochen wieder seinem Ausgangswert. Unsere Kurve der GPT - bis zum 10. Tag des Regenerationsablaufes bestimmt - zeigt prinzipiell die gleichen Änderungen.

PYRUVAT - KINASE

Nach KREBS (48) verändert sich vor allem die Aktivität der PK unter bestimmten Voraussetzungen folgendermaßen:

1) Bei kohlenhydratreicher Diät steigt die Aktivität der PK. Pyruvat fließt zum Koenzym A.
2) Unter Ernährungsbedingungen, die die Glukoneogenese fördern, wie z.B. Hunger, oder kohlenhydratarmer Diät, sinkt die Aktivität dieses Enzyms. Eine Verminderung der PK geht mit einer Zunahme der Glukoneogenese einher.

Der in unseren Versuchen zunächst beobachtete Abfall der Aktivitätskurve in den ersten beiden Tagen um ca. 50% spricht für eine anfängliche Zunahme der Glukoneogenese. Der darauf folgende deutliche Anstieg deutet darauf hin, daß die Glykolyse ab dem dritten Tag nach 2/3 Hepatektomie wieder ingang kommt. Dies geschieht wahrscheinlich unter Ausnutzung der mit der Nahrung aufgenommenen Kohlenhydrate.

ENOLASE und PHOSPHOGLUKOSEISOMERASE

Nach partieller Leberresektion steigt in unserem Versuch die Enolase um ca. 50% bis zum 6. Tag an. Auch die PGI läßt bis zum 7. Tag einen stetigen Anstieg erkennen. Diese beiden Enzyme sind an den Stoffwechselketten der Glukoneogenese und der Glykolyse beteiligt. Demnach könnte man den Kurvenverlauf der PGI dahingehend interpretieren, daß dieses Enzym unter unseren Versuchsbedingungen keine begrenzende Wirkung im KH - Metabolismus besitzt. Dagegen möchten wir den Anstieg der Enolasekurve als Ausdruck für eine gesteigerte Neusynthese dieses Enzyms werten.

LACTAT-DEHYDROGENASE

Den raschesten Anstieg schon am zweiten Tag zeigt die LDH. Da die Milchsäure als ein günstiges Ausgangsprodukt für die Glukoneogenese bekannt ist (Cori-Cyclus), könnte der Aktivitäts-Anstieg dieses Enzyms andeuten, daß der Organismus in einer früheren Phase der Regeneration auf Blutmilchsäure zur Zuckerneubildung zurückgreift.

HEXOKINASE

Die HK zeigt den spätesten Anstieg der untersuchten Enzyme und erreicht ihr Maximum erst am 8. Tag nach der Operation. Sie steigt um ca. 150% gegenüber ihrem Normalwert. Dieser relativ späte Aktivitätsanstieg paßt gut zu der Vorstellung, daß die Glykolyse zu Energiegewinnung und Fettverbrennung erst dann wieder ingangkommen kann, wenn die Leberregeneration und damit die Glykogenbildung schon gewisse Fortschritte erzielt hat.

Die vorgelegten Versuche sollen den Anfang und eine Annäherung an die von uns aufgestellte Theorie darstellen. Weitere Untersuchungen von anderen funktionell zusammenhängenden Enzymketten und die Differenzierung von einzelnen Zellfraktionen werden unsere Ergebnisse untermauern müssen.

Mit der Theorie, daß die f u n k t i o n e l l e B e a n s p r u c h u n g die Leberregeneration und damit die Mitosefrequenz anregt, lassen sich die meisten bisher vorgelegten Hypothesen zum Problem der Leberregeneration erklären. Nach der gut fundierten, ablehnenden Kritik von FISHER, FISHER und SAFFER (25) erscheint es auch uns unwahrscheinlich, daß es substanzielle, spezifisch aktivierende oder reprimierende Faktoren für Leberregeneration geben soll. Die Diskussion über diese Substanzen sollte erst dann wieder aufgenommen werden, wenn die Reindarstellung eines solchen Faktors reproduzierbar gelungen ist.

Die nachweisbaren Phänomene der Leberregeneration werden unserer Meinung nach aus der Zelleistung heraus selbst gesteuert, ohne daß andere übergeordnete Steuersubstanzen notwendig wären. Die Enzymaktivitätsänderungen sind Ausdruck der ablaufenden Regenerationsvorgänge, die ihren Impuls aus dem Zellkern erhalten haben. Dieser Antrieb besteht nach unserer Ansicht in dem Bestreben, einen Gleichgewichtszustand zwischen physiologischer Leistung und entsprechender Anforderung wieder herzustellen.

Die immer wieder angeführten Parabioseversuche (17), mit denen die spezifischen Aktivatoren oder Inhibitoren nachgewiesen werden sollen, führen auch zu einer Verminderung des Lebervolumens des parabiotischen Paarlings. Das Tier mit der intakten Leber muß unserer Meinung nach einen Teil der Stoffwechselaufgaben des partiell hepatektomierten Partners mitübernehmen, was zu einem Mitoseschub bei beiden Tieren führt.

Selbst Versuche mit Pharmaka, die die Leberfunktion beeinträchtigen, sind damit zu erklären (Lit.bei 52). Die Bremsung

einer Stoffwechselleistung, z.B. durch Barbiturate (52), wird von dem Organ Leber mit einer Zellneubildung beantwortet, wenn keine anderen Möglichkeiten bestehen, die Funktion in dem notwendigen Ausmaß aufrechtzuerhalten. Es scheint, wie die oben angeführten Versuche zeigen, mehrere Stoffwechselketten der Zelle zu geben, deren Beeinträchtigung gleichermaßen von dem Organismus mit einer Zellneubildung beantwortet wird.

Aufgrund dieser Überlegungen und der vorgelegten Untersuchungsbefunde sind wir zu der Ansicht gekommen, daß der s t i m u l i e r e n d e F a k t o r f ü r d i e L e b e r r e g e n e r a t i o n i n d e r f u n k t i o n e l l e n B e a n s p r u c h u n g z u s e h e n i s t .

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorgelegten Arbeit wurden Probleme der Leberregeneration nach 2/3 Hepatektomie an WISTAR-Ratten unter besonderer Berücksichtigung der Aktivitätsänderungen von Enzymen des glykolytisch-glukoneogenetischen Systems und einer Transaminase (GPT) untersucht.
Im einzelnen folgende Enzyme:

1. PYRUVAT - KINASE
2. LACTAT - DEHYDROGENASE
3. ENOLASE
4. HEXOKINASE
5. PHOSPHO - GLUKOSE - ISOMERASE
6. GLUTAMAT - PYRUVAT - TRANSAMINASE

1. Die PYRUVAT - KINASE fällt innerhalb von 24 Stunden statistisch signifikant ab und hat auch am 2. Tag nach 2/3 Hepatektomie den Ausgangswert noch nicht wieder erreicht. Dies spricht für eine Zunahme der Glukoneogenese (48).
   Erst ab dem 3. Tag kommt es zum Anstieg dieser Enzymaktivität. Wir werten dies als Folge einer zunehmenden Glykolyse, die zur Metaboliten- und Energiegewinnung für die ablaufenden Regenerationsvorgänge der Leber notwendig ist.

2. Nach 2/3 Hepatektomie läßt die LACTAT - DEHYDROGENASE einen statistisch gesicherten Aktivitätsanstieg erkennen. Dies deuten wir als Hinweis auf die Mitverwendung von Milchsäure bei der Zuckerneubildung in der Restleber.

3. Der statistisch eindeutige Anstieg der ENOLASE-Aktivität läßt sich in diesem kurzen Beobachtungszeitraum nicht sicher beurteilen, da dieses Enzym sowohl am Aufbau als auch am Abbau der KH beteiligt ist.

4. Die Kurve der HEXOKINASE steigt erst am 3. und 4. Tag, d.h. wenn die Regeneration der Leber schon beträchtlich fortge-

schritten ist, statistisch gesichert an. Die HK ist der Schrittmacher der Glykolyse. Erst wenn das Operationstrauma überwunden ist und die Glykolyse der mit der Nahrung aufgenommenen KH zur Leberregeneration beiträgt, erhöht sich die Aktivität der Hexokinase.

5. Die PHOSPHO-GLUKOSE-ISOMERASE zeigt einen geringfügigen Aktivitätsanstieg. Daraus kann man schließen, daß dieses Enzym im Stoffwechselgeschehen nach 2/3 Hepatektomie keinen begrenzenden Faktor darstellt. Seine Aktivität ist ausreichend, um die Stoffwechselabläufe ingangzuhalten.

6. Die GLUTAMAT-PYRUVAT-TRANSAMINASE fällt, wie dies schon andere Autoren (BENGMARK und OLSSON) gezeigt haben, nach 2/3 Hepatektomie statistisch deutlich ab. Wahrscheinlich wird das Fließgleichgewicht in der Leber so verändert, daß die Transaminierungsreaktionen eingeschränkt werden.

Zur Erklärung der Befunde stellen wir folgende Theorie auf: Die Änderung der Aktivität der untersuchten Enzyme lassen darauf schließen, daß es in der Restleber nach 2/3 Hepatektomie zu einer Umstellung der Stoffwechselwege kommt, die sich - nach unseren und anderen Befunden - mit fortschreitender Regeneration zurückbilden. Wir möchten in dieser f u n k t i o n e l l e n M e h r b e a n s p r u c h u n g des Leberstoffwechsels nach 2/3 Hepatektomie, wie wir in unserem speziellen Fall der Glukoneogenese zeigen konnten, den e n t s c h e i d e n d e n F a k t o r für die Anregung der Regeneration der Leber sehen.

Die meisten beobachteten Phänomene, die zu einer Mitoseanregung in der Leber führen, lassen sich auf diese Weise erklären. Sie wurden eingehend erläutert.

Das gestörte Fließgleichgewicht, besonders im Hinblick auf die Glukoneogenese, scheint sich über die einzelnen Reaktionsstufen bis in den Zellkern zurückzuübertragen. Dort bewirkt dieses Mißverhältnis zwischen Anforderung und Leistung die Auslösung von

Enzymneubildung und Mitosen. Diese regenerationsfördernde Wirkung dauert so lange an, bis das angestrebte lebende Gleichgewicht im Stoffwechsel der Leber wiederhergestellt ist.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Adibi, S., Paschkis A.E., Cantarow A.: Stimulation of Liver Mitosis by Blood Serum from Hepatektomized Rats. Exp. Cell Res. 18 (1959) 396-398
2. Altmann, H.-W., K. Loeschke und K. Schenk: Über das Kryogramm der menschlichen Leber unter normalen und pathologischen Bedingungen. Virchows Arch. 341, (1966) 85-101
3. Andrus, H., Pechet, G., Mc Donald R.A.: Bile duct obstruktion and regeneration of the liver. Proc. Soc. exp. Biol.(NY) 106, (1961) 809-812
4. Astrabaldi, T.M., Essex, H.E., Grindlay, I.H.: The effect of hypophysektomy on the regeneration of the liver after partial hepatektomy on dogs. Endokrinology 52(1953),652-655
5. Bengmark, S., Almersjö, O. und Engevik, L.: Funktionelle Veränderungen nach Hemihepatektomie beim Menschen. 82. Tagung Dtsch. Ges. f. Chir. München, 21.24.IV. 1965. Langenbecks Arch. klin. Chir. 313, (1965) 374-380
6. Bengmark, S. und Olsson, R.: Experimental Study of Liver Healing after Partial Hepatektomy. Sonderdruck, Acta Hepato-Splenologica, Vol. 10, Stuttgart, September/Oktober (1962) No. 5
7. Bengmark, S. and Olsson, R.: Effect of Vitamin B_{12} on Liver Regeneration after Partial Hepatektomy. Gastroenterologia 100, (1963) 75-86
8. Bengmark, S., Olsson, R.: The effect of Testosterone on liver-healing after partial hepatektomy. Acta chir. scand. 127, (1964) 93-100
9. Bengmark, S., Olsson, R.: The effect of Castration and Testosterone treatment on liver-healing on male rats after Carbon-Tetrachloridinjury. Pathologia et Microbiologia 27, (1964) 167-174
10. Berger, L., Slein, M.W., Colowick, S.P. und Cori, C.F.: J. Gen. Physiol. 29, (1946), 379
11. Blomquist, K.: Growth stimulation in the liver and tumor development following intraoeritoneal injektions of liver homogenates on rat. Acta pathol. microbiol. Scand. Suppl. NO 121 (1957) 1-65

12. Brues, A.M. and Marble, B.B.: An analysis of mitosis in liver restoration. J. exp. Med. 65 (1937) 15-27

13. Bucher, N.L.R., Scott, J.J., Aub, J.C.: Regeneration of the liver in parabiotic Rat. Cancer Research 11, (1951)457-465

14. Cameron, C.B.: The liver and the steroid hormone metabolism. In: Roullier, CH., The Liver, Band II, Academic Press, New York, London (1967) 91-120

15. Canzanelli, A., Guild, R., Rapport, D.: Pituitary and adrenocortical relation-ships to liver regeneration and nucleic acids. Endokrinology 45, (1949) 91-95

16. Cherry, C.P., Bland, M.N., Constable, B.J., Hughes, R.E., Harris, L.J.: Morphology of the enlarged liver on guinea-pigs treated with ACTH or Cortisone. Brit.J.exp.Pathology 35, (1954), 551-555

17. Christensen, B., Jakobsen, E.: Studies on liver regeneration. Acta med. scandinav. Suppl. 234, (1949) 103-108

18. Degenhardt, G., Hübener, H.J. und Alester, I.: Über den Wirkungsmechanismus der Glucocorticoide. Hoppe Seylers Z. physiol. Chem. 323, (1960) 278

19. Di Stefano, H.S., Diermeier, H.F., Teppermann, J.: Effects of growth hormone on nucleic acid and protein content of rat liver cells. Endokrinology 57, (1955) 158-167

20. Echave Llanos, J.M. and Russo, J.: Action of pituitary gland homogenates from untreated and hepatektomized rats on hepatic regeneration. Naturwissenschaften 52, (1965) 63

21. Edwards, J.L., Koch, A.: Parenchymal and littoral cell proliferation during liver regeneration. Lab. Invest. 13, (1964) 32-43

22. Eichhorn, O.: Die Bedeutung der Gefäßpermeabilität im Gehirn. Wien. klin. Wschr. 68, (1956), 237

23. Ferguson, C.C., Rogers, C.S., Vars, H.M.: Liver regeneration in the presence of common bile duct obstruction. Amer. J. physiol. 159 (1949) 343-350

24. Ferrari, V.: Metabolismo degli acidi grassi liberi dopo epatetomia parziale in ratti normali, surrenectomizzati e ipofisectomizzati. Epatologica (Roma) 7, (1961) 175-193

25. Fisher, B., Fisher, E.R. and E. Saffer: Investigations concerning the Role of a Humoral Faktor in Liver Regeneration. Cancer Research Vol. 23 (July 1963), 914-921
26. Fisher, B., Sil, H.L., Fisher, E.R. and Saffer, E.: Liver regeneration following portocaval shunt. Surgery 52 (1962) 88-102
27. Friedrich-Freska, H., Zaki, F.G.: Spezifische Mitose Auslösung in normaler Rattenleber durch Serum partiell hepatektomierter Ratten. Z. Naturforsch. 9 B (1954) 394-397
28. Gershbein, L.L.: Liver regeneration in the presence of high levels of vitamins an lipids. Int. Z. Vitaminforsch. 35 (1965) 264-270
29. Glinos, A.D.: The mechanism of liver growth and regeneration on chemical basis of development. In: Johns Hopkins Press, Baltimoore, Mc Elroy, W.D., Glass, B., (1958) 813
30. Glinos, A.D.: Liver regeneration and liver function. In: Liver Function (R.W. Brauer ed.), Am. Inst. Biol. Sci. Publ. No. 4 (1956) Washington, D.C. 425-438
31. Glinos, A.D.: Inhibition of liver cell division and serum protein changes induced by dehydration in partially hepatektomized rat. Fed. Proc. 15, (1956) S. 76
32. Greenbaum, A., Greenwood, F.C. and Harkness, R.D.: Glutamatic Dehydrogenase and Glutamatic Aspartic Transaminase in Regeneration Liver of the Rat. The Journal of Physiology 125, (1954) 251-262
33. Gucd, F.N., Voss, H.M., Ravdin, I.S.: Composition of regenerating liver after partial hepatektomy in normal and protein depleted rats. Am. J. physiol. 152, (1948) 11-21
34. Harkness, R.D.: Regeneration of Liver.: British medical Bulletin 13, (1957) London, 87-93
35. Harkness, R.D.: Liver Regeneration. Scietific Basis of Medicine Annual Review 1961, 236-261
36. Harper, H.A.: Review of physiological Chemistry. Lange Med. Publ., Los Altos, Calif., (1961)
37. Haug, H., Strik, W.: Zur Biochemie der Leberregeneration. Vortrag: Internat. Symposion über aktuelle Probleme der Leberchirurgie. München, 1.4.1967, im Druck.

38. Himwich, H.E.: The role of lactic acid in the living organism. Yale J. Biol. Med. 4, (1932) S. 259

39. Holzer, E.: Biochemie der Enzyme. In: Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 70. Kongress vom 6.4.-9.4.1964 in Wiesbaden. Verlag von J.F. Bergmann, München (1964) S. 471

40. Hübener, H.J.: Über den Mechanismus der Gluconeogenese nach oraler Cortisol-Gabe. Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem. 322, (1960) 135-141

41. Hughes, P.E.: Humoral faktors in liver regeneration. Australasian Am. Med. 9 (1960) 41-43

42. Hyde, P.M.: Liver Glycogen Deposition after i.v. and intragastrical Administration of Cortisol-C^{14} to rats. Endokrinology 61, (1957) S. 774

43. Islami, A.H., Pack, G.T., Hubbard, I.C.: The humoral faktor in regeneration of the liver in parabiotic rats. Surg. Gyn. Obstet. 108, (1959) 549-554

44. Jacob, F., Perrin, D., Sanches, C., et Monod, J.: L'operon: Groupe de gènes à expression coordonnée par un opérateur. Compt. Rend. Acad. Sci. 250, (1960) S. 1727

45. Karlson, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Georg Thieme-Verlag, 4. Auflage (1964), 227-249

46. Klotzsch, H. und Bergmeyer, H.-U.: Z. Angew. Chem. 72, (1960) S. 920

47. Kohn, R.: Effect of administration of rat serum on liver regeneration. Exp. Cell. Res. 14, (1958) 228-238

48. Krebs, H.A.: Control Mechanism of Carbohydrate Metabolism. In: Federation of European Biochemical Societies, 2nd Meeting Abstractions, Vienna (1965) 351-361

49. Kubowitz, F. und Ott, P.: Biochem. Z. 314, (1943) S. 94

50. Kubowitz, F. und Ott, P.: Biochem. Z. 317, (1944) S. 193

51. Kunitz, M. und Mc Donald, M.R.: J. Gen. Physiol. 29, (1946) S. 393

52. Kunz, W., Schaude, G., Schimassek, H., Schmid, W. and Siess,M.: Stimulation of Liver Growth by Drugs, II. Biochemical Analysis. Proc. europ. soc. for study of drug toxicity 7, (1966) 138-153

53. Kuschinsky, G. und Lüllmann, H.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, 3. Auflage (1967), S. 146
54. Lathiharju, A.: Influence of autolytic and necrotic liver tissue on liver regeneration on rat. Acta pathol. microbiol. Scand. 150 (1961) 1-99
55. Leduc, E.H.: Regeneration of the Liver. In: Roullier, CH. "The Liver" Band II, Academic Press, New York, London(1964)
56. Lenard, P. und Straub, F.B.: Studies Inst. Med. Chem. Univ. Szeged 2, (1942) S. 59
57. Lohmann, K. und Meyerhof, O.: Biochem. Z. 273, (1934) S. 60
58. Lohmann, K.: Biochem. Z. 262, (1933) S. 137
59. Mac Donald, R.A., Rogers, A.E.: Control of regeneration of the liver: Lack of effect of plasma from partially hepatektomized cirrhotic and normal rats upon DNS-synthesis and Mitosis on rat liver. Gastroenterology 41 (1961) 33-38
60. Mc Donald, R.F.: Lifespan of liver cells. Arch. intern. Med. 107, (1961) S. 335
61. Mc Junkin, F.A., Brenhaus, H.C.: Homologous liver as a stimulus to hepatic regeneration. Archives of Pathology 12 (1931) 900-908
62. Mann, F.C., Magath, T.B.: The liver as aregulator of glucose concentration of the blood. Amer. J. Physiology 55,(1921) 285-286
63. Mann, F.C.: The portal circulation and restoration of the liver after partial removal. Surgery 8, 225-238 (1940)
64. Meyerhof, O.: Biochem. Z. 183, (1927) S. 176
65. Meyerhof, O., Ohlmeyer, P., Gentner, W. und Maier-Leibnitz,H.: Biochem. Z. 298, (1938) S. 396
66. Monod, J. and Jacob, F.: Cellular Regulatory mechanism. Cold Spring Harbor, Symposia on Quantitative Biologie 26, (1961) 193-211
67. Müller, H.-A.: Die Chromozentren in den Leberzellen der Maus unter normalen und pathologischen Bedingungen. Ergebn. Path. 47, (1966) 144-185
68. Noltmann, E. und Bruns, F.H.: Biochem. Z. 331, (1959), S. 436

69. Oehlert, W., Hämmerling, W. und Büchner, F.: Der zeitliche Ablauf und das Ausmaß der DNS-Synthese in der regenerierenden Leber der Ratte nach Teilhepatektomie. Beitr. path. Anat. 126, (1962) 91-112

70. Paschkis, K.E.: Growth promoting factor on tissues. A review. Cancer Res. 18, (1958) 981-991

71. Perez-Tamayo, R., Murphy, W.R., Ihnen, M.: Effect of cortisone and portal starvation on liver regeneratio. AMA Archives of Pathology 56, (1953) 629-636

72. Pfeifer, U.: Formen und Ursachen intrahepatischer Zelleinschlüsse in Leberepithelien nach partieller Hepatektomie. Ber.Physikal-Med. Gesellschaft Würzburg 76,(1968) 35-38

73. Rabinovici, N. and Vardi J.: The effect of regeneration on the hemodynamics of the cirrhotic liver after hepatektomy. Surg. Gynec. Obstet. 116, (1963) 533-538

74. Ragan, C., Howes, E.L., Plotz, C.M., Meyer, K., Blunt, J.W., Lattes, R.: The effect of ACTH and Cortisone on Connective Tissue. Bull. New York Acad. Med. 26, (1950) S. 251

75. Rogers, A.E., Shaka, J.A., Pechet, G., Mc Donald, R.A.: Regeneration of Liver: Absence of a Humoral Faktor Effecting Hepatic Regeneration in Parabiotik Rats. Am. J. Pathol. 39, (1961) 562-578

76. Rous, P. and Larimore, L.D.: Relation of the portal blood to liver maintenance. J. exptl. Med 31, (1920) 609-632

77. Rubin, E., Hutterer, F. and Popper, H.: Cell proliferation and fiber formation in chronic carbon tetrachloride intoxication. A morphological and chemical study. Am.J.Path. 42, (1963), S. 715

78. Rubin, E., Krus, S. and Popper, H.: Pathogenesis of postnecrosic cirrhosis in alcoholics. Arch. Pathol. 73, (1962) S. 288

79. Rubin, E., Masuko, K., Goldfarb, S. and Zaki, F.G.: Role of cell proliferation in hepatic carcinogenesis. Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 115, (1964) S. 381

80. Saetren, H.: A principle of auto-regulation of growth. Production of organ specific mitose-inhibitors in kidney and liver. Exp. Cell Res. 11, (1956) 229-232

81. Smith, P.E., Greenwood, C.F., Forster, G.L.: A comparsion on normal thyreoidectomized and hypophysectomized rats of the effects upon metabolism and growth resulting from dayly injektions of small amounts of thyreoid extract. Am. J. Path. 3, (1927) 669-687

82. Smythe, R.L., Moore, R.O.: A Study of possible humoral Faktor in Liver Regeneration in the Rat. Surgery 44, (1958) 561-569

83. Soskin, S.: The liver and carbohydrate metabolism. Endokrinology 26, (1940), S. 297

84. Stephenson, G.W.: Experimental pathology of the liver. Restoration of the liver after partial hepatektomy and partial ligation of the portal vein. AMA. Arch. Path. 14, (1932) 484-490

85. Stitch, H.F., Florian, M.L.: The inhibition of liver mitosis by serum and tissue homogenates. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 2, (1958) 349

86. Stitch, H.F., Florian, M.L.: The presence of a mitosis inhibitor in the serum and liver of adult rats. Can. J. Biochem. and Physiol. 36, (1958) 855-859

87. Stöcker, E.: Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Sonderdruck aus: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie. 50.Tagung vom 26. bis 30. April 1966. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1966) 58-70

88. Stöcker, E., Heine, W.D.: Über die Proliferation von Nieren und Leber-epithel unter normalen und pathologischen Bedingungen. Autoradiographische Untersuchungen mit H^3 Thymidin an der Ratte. Beitr. path. Anat. 131, (1965) 410-434

89. Stowell, R.E.: Nucleic acids and cytological changes in regenerating rat liver. Arch. Path. 46, (1948) 164-178

90. Straub, F.B.: Biochem. J. 34, (1940) S. 483

91. Swann, M.M.: The control of cell division: A review, II Spezial mechanisms. Cancer Res. 18, (1958) 1118-1160

92. Szego, C.M., Roberts, S.: The influence of ovariaectomy on the chemical composition of regenerating rat liver. J. biol. Chem. 178, (1949) 827-838

93. Szilard, L.: The molekular basis of antibody formation. Proc. nat. Acad. Sci., Wash. 46, (1960) S. 293

94. Teir, H. and Lathiharju, A.: Effect of necrotic liver tissue on regeneration in hepatektomized rats. Exp. Cell Res.24, (1961) 424-428

95. Thompson, R.Y. and Clarke, A.M.: Role of portal blood suply in liver regeneration. Nature (London) 208, (1965) 392-393

96. Thorn, W.: Organstoffwechsel und Organfunktion. In: D-Glucose und verwandte Verbindungen in Medizin und Biologie. F. Enke Verlag Stuttgart (1966) S. 378

97. Thorn, W., Scheitza, H.: Glucosebildung und Glycogeneinlagerung in Gehirn, Leber, Niere, Herz und Skelettmuskel bei kohlehydratfreier Ernährung. Pflügers Arch. ges. Physiol. 273, (1961) S. 18

98. Voutilainen, A. and Täthi, E.: Influence of intraperitoneally injekted irradiated liver tissue on liver regeneration of hepatektomized rats. Ann. Med. exp. Fenn. 43,(1965) 29-31

99. Warburg, O. und Christian, W.: Biochem. Z. 310, (1941) S. 384

100. Watson, J.D.: Beteiligung der Ribonucleinsäure an der Proteinbiosynthese. Angew. Chemie 75, (1963) S. 439

101. Weinbren, K.: Regeneration of the Liver. Gastroenteriology 37, (1959) 657-668

102. Weiss, P.A.: The Problem of spezifity in growth and development. Yale J. Biol. and Med. 19, (1947) 235-278

103. Weiss, P.A.: Specifity in growth control. In: Biological Spezifity and Growth (E.G. Butler ed.) 195-206, 12th Symposion of Society for Study of Development and Growth. Princetown University Press, New Jersey (1955)

104. Wenneker, A.S., Sussmann, N.: Regeneration of liver tissue following partial hepatektomy in parabiotic rats. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 76 (1951) 683-686

105. Welt, J.D., De Witt, S.Jr., Ingele, D.I., Morley, E.H.: Effect of Cortisone upon Rates of Glucose Production and Oxydation in the Rat. J. of Biol. Chemistry 197, (1952) S. 57

106. Wieland, O.: Neuere Ergebnisse aus der Chemie und Stoffwechsel der Kohlehydrate. 8. Colloquium der Gesellschaft für physiologische Chemie am 2./4. Mai 1957 in Mosbach/Baden. In: Wechselbeziehungen zwischen Kohlehydrat und Fettstoffwechsel und ihre Störungen, Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1958) 86-113

107. Williams, R.B.: Liver regeneration in rats on diets that produce Cirrhose. Military Surgeon 109, (1951) 435-462

108. Wilson, J.D., Leduc, E.H.: Mitotic rate in mouse liver following intraperitoneal injektion of liver, kidney and egg yolk. Anat. Record. 97, (1947) 470-494

109. Zimmermann, M., Cellozzi, E.: Stimulation of cell division in normal rat liver by a faktor in serum from hepatektomized rats. Fed. Proc. 19 (1960) 139

Herrn Privatdozent Dr. med. H. HAUG möchte ich an dieser Stelle meinen besonders herzlichen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas, seine wertvolle Hilfe und sein stetiges Interesse an meiner Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. H. FRANKE danke ich für die Übernahme des Korreferates und die Erlaubnis, an seiner Klinik arbeiten zu dürfen.

LEBENSLAUF

Ich, Friedrich Wolfgang Schaum, wurde am 28.6.1943 in Gelnhausen als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Wolfgang Schaum und seiner Ehefrau Susanne, geb. Merz, geboren.

1950 wurde ich in die Volksschule Gelnhausen eingeschult, besuchte ab Ostern 1954 die Grimmelshausenschule-Gymnasium in Gelnhausen und bestand dort am 27.3.1963 das Abitur. Nach Ableistung meines Wehrdienstes verließ ich die Bundeswehr als Fahnenjunker der Reserve im Jahr 1964.

Im Sommersemester 1964 begann ich in Saarbrücken das Studium der Medizin. Nach dem Vorphysikum, das ich dort bestand, immatrikulierte ich mich in Würzburg und legte dort am 19. April 1967 mein Physikum mit Erfolg ab.

Das erste klinische Semester studierte ich in Würzburg und ging dann für ein Semester an die Universität Innsbruck. Die letzten vier klinischen Semester verbrachte ich wieder in Würzburg.
Ende Juli 1970 bestand ich das medizinische Staatsexamen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsmittel benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Wolfgang Schaum

Schnelldruck - Böhler, 87 Würzburg, Wirsbergstraße 10